



SKRIPSI – TK141581

PERAN BAKTERI *Bacillus cereus* DAN *Pseudomonas Putida* DALAM BIOREMEDIASI LOGAM BERAT (Fe, Cu, DAN Zn) PADA TANAH TERCEMAR MINYAK BUMI

Oleh :

**Annisa Nur Farida
NRP. 2312 100 089**

Dalyla

NRP. 2312 100 095

Dosen Pembimbing :

**Dr. Ir. Sri Rachmania Juliastuti, M.Eng
NIP. 19590730 198603 2 001**

**JURUSAN TEKNIK KIMIA
FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2016**



FINAL PROJECT – TK141581

THE FUNCTION OF *Bacillus cereus* AND *Pseudomonas putida* FOR HEAVY METALS (Fe, Cu AND Zn) BIOREMEDIATION IN PETROLEUM CONTAMINATED SOIL

By :

**Annisa Nur Farida
NRP. 2312 100 089**

Dalyla

NRP. 2312 100 095

Advisor :

**Dr. Ir. Sri Rachmania Juliastuti, M.Eng
NIP. 19590730 198603 2 001**

**CHEMICAL ENGINEERING DEPARTMENT
FACULTY OF INDUSTRIAL TECHNOLOGY
SEPULUH NOPEMBER INSTITUT OF TECHNOLOGY
SURABAYA
2016**

LEMBAR PENGESAHAN

Peran Bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas putida* dalam Bioremediasi Logam Berat (Fe, Cu dan Zn) pada Tanah Tercemar Minyak Bumi

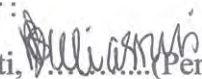
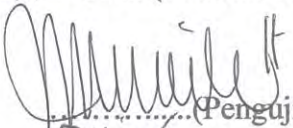
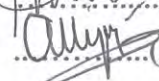
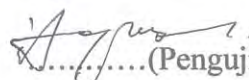
Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar sarjana teknik pada program studi S-1 Jurusan Teknik Kimia Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya

Oleh :

Annisa Nur Farida
Dalyla

(2312 100 089)
(2312 100 095)

Disetujui oleh tim penguji tugas akhir :

1. Dr. Ir. Sri Rachmania Juliastuti, (Pembimbing)
M.Eng. 
2. Ir. Nuniek Hendrianie, M.T. (Penguji I) 
3. Prof. Dr. Ir. Arief Widjaja, (Penguji II)
M.Eng. 
4. Dr. Eng. Raden Darmawan, (Penguji III)
S.T., M.T. 



Surabaya
Juli, 2016

“PERAN BAKTERI *Bacillus cereus* DAN *Pseudomonas Putida* DALAM BIOREMEDIASI LOGAM BERAT (Fe, Cu, DAN Zn) PADA TANAH TERCEMAR MINYAK BUMI”

Nama : 1. Annisa Nur Farida
2. Dalyla
NRP : 1. 2312100089
2. 2312100095
Pembimbing : Dr. Ir. Sri Rachmania Juliastuti M.Eng

ABSTRAK

Kegiatan eksplorasi dan produksi minyak bumi sangat berpotensi mencemari lingkungan. Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk mengatasi pencemaran minyak bumi adalah dengan metode Bioremediasi yang menggunakan mikroorganisme untuk menghilangkan kandungan logam berat pada minyak bumi yang mencemari tanah. Penelitian ini bertujuan menentukan efisiensi bioremediasi sebagai fungsi konsentrasi logam dengan parameter pengukuran kandungan logam, pH, temperatur dan konsentrasi bakteri pada pengolahan tanah yang terkontaminasi minyak bumi secara bioremediasi ex situ fase slurry bioreaktor. Ada tiga tahapan utama dalam penelitian ini yaitu tahap preparasi tanah dan bakteri, proses bioremediasi dengan bioreaktor, dan analisa konsentrasi logam (Cu, Zn dan Fe). Penelitian ini menggunakan 3 variabel bebas yaitu : konsentrasi mikroba dalam bioreaktor (10% dan 15%), perbandingan jumlah bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas putida* yang digunakan (1:0, 1:1, 0:1), serta kandungan logam yang dianalisa (Fe, Cu dan Zn). Pertumbuhan bakteri diamati setiap lima hari dengan cara menghitung jumlah populasi menggunakan hemasitometer. Konsentrasi logam dianalisa dengan metode AAS. Dari hasil

penelitian, pada variabel 10% bakteri, efisiensi bioremediasi terbesar baik untuk logam Fe, Cu, maupun Zn rata-rata diperoleh menggunakan bakteri *B. cereus* yakni sebesar 76,67% (Fe), 86,93% (Cu), dan 14,81% (Zn) dengan urutan logam teradsorp dari yang terbesar adalah Cu, Fe dan Zn. Sedangkan pada variabel 15% bakteri, efisiensi bioremediasi terbesar rata-rata diperoleh menggunakan bakteri campuran *B.cereus* : *P.putida* = 1:1 yakni sebesar 82,78% (Fe), 100% (Cu), dan 31,84% (Zn) dengan urutan logam teradsorp dari yang terbesar rata-rata adalah Cu, Fe dan Zn. Kemudian untuk efisiensi bioremediasi secara overall lebih bagus menggunakan variabel 15% (v/v) konsentrasi bakteri dalam bioreaktor daripada 10% konsentrasi bakteri.

Kata kunci : tanah tercemar minyak bumi, bioremediasi, logam berat, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas putida*.

**THE FUNCTION OF *Bacillus cereus* AND *Pseudomonas putida* FOR HEAVY METALS (Fe, Cu AND Zn)
BIOREMEDIATION IN PETROLEUM
CONTAMINATED SOIL**

Name : 1. Annisa Nur Farida
2. Dalyla
NRP : 1. 2312100089
2. 2312100095
Advisor : Dr. Ir. Sri Rachmania Juliastuti M.Eng
ABSTRACT

Exploration and production of crude oil has the potential to pollute the environment. One way that can be done to overcome the oil pollution is the bioremediation method that uses microorganisms to remove the heavy metal content in the petroleum contaminated soil. This study aim to determine the efficiency of bioremediation as a function of the concentration of metal with metal content measurement parameter, pH, temperature and concentration of bacteria in the processing of petroleum contaminated soil. There were three main stages in this research which were soil and bacteria preparation, bioremediation process, and analysis of metal concentrations (Cu, Zn and Fe). This study used three independent variables: the concentration of microbes in the bioreactor (10% and 15%), the ratio of the number of *Bacillus cereus* and *Pseudomonas putida* were used (1: 0, 1: 1, 0: 1), and the metal content was analyzed (Fe, Cu and Zn). Bacterial growth was monitored every five days by counting the number of bacteria using hemocytometer. Metal concentrations were analyzed by AAS method. From the research, the variable of 10% bacteria, the largest bioremediation efficiency for Fe, Cu, and Zn obtained using *B. cereus* which amounted to 76.67% (Fe), 86.93% (Cu), and 14.81% (Zn) with the sequence adsorbed metal from the largest was Cu, Fe and Zn. While the variable of 15% bacteria, the largest bioremediation

efficiency average was obtained using a mixture of bacteria *B.cereus*: *P.putida* = 1: 1 which was equal to 82.78% (Fe), 100% (Cu), and 31.84% (Zn) with the sequence of the largest absorbed metal average was Cu, Fe and Zn. Then for the overall efficiency of bioremediation was better to use variable 15% (v/v) concentration of bacteria in the bioreactor than 10% concentration of bacteria.

Keywords: Petroleum contaminated soil, bioremediation, heavy metals, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas putida*.

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	ii
ABSTRAK	iii
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Perumusan Masalah	5
I.3 Batasan Masalah	6
I.4 Tujuan Penelitian	6
I.5 Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
II.1 Minyak Bumi dan Komposisinya	7
II.2 Pencemaran Lingkungan oleh Minyak Bumi dan Dampaknya	9
II.3 Tinjauan Umum tentang Logam Berat.....	10
II.4 Bioremediasi	12
II.5 Mekanisme Bioremediasi.....	14
II.6 Mikroba yang Berperan dalam Bioremediasi Logam Berat	19
II.6.1 Tinjauan Umum Bakteri.....	19
II.6.2 Bakteri untuk Bioremediasi Logam	21
II.6.3 Bakteri <i>Bacillus cereus</i>	23
II.6.4 Bakteri <i>Pseudomonas putida</i>	24
II.7 Faktor yang Mempengaruhi Bioremediasi Logam Berat.....	24
II.7.1 Mikroba	25
II.7.2 Kondisi Lingkungan.....	25
II.7.3 Nutrisi.....	27

II.8 Penelitian-Penelitian Terdahulu.....	28
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	31
III.1 Lokasi dan Waktu Penelitian	31
III.2 Kondisi Operasi	31
III.3 Variabel Penelitian	31
III.4 Alat dan Bahan	32
III.4.1 Alat.....	33
III.4.2 Bahan	33
III.5 Prosedur Penelitian	33
III.5.1 Preparasi Tanah Tercemar Minyak Bumi	33
III.5.2 Persiapan Bakteri	34
III.5.2.1 Pengembangan Kultur	34
III.5.2.2 Peremajaan Bakteri.....	34
III.5.3 Persiapan Reaktor	35
III.5.4 Proses Bioremediasi.....	36
III.6 Besaran yang Diukur	36
III.7 Prosedur Penelitian Bioremediasi	37
III.8 Prosedur Analisa	38
III.8.1 Analisa pH	38
III.8.2 Analisa DO dan Temperatur	38
III.8.3 Analisa Jumlah Bakteri.....	39
III.8.4 Analisa Kandungan Logam (Fe, Cu dan Zn).....	40
III.8.5 Analisa MLSS	40
III.8.6 Analisa MLVSS	41
III.8.7 Analisa BOD ₅	41
BAB IV HASIL PENGAMATAN DAN PEMBAHASAN	43
IV.1 Hasil Pengamatan.....	43
IV.1.1 Pertumbuhan Bakteri <i>B. cereus</i> dan <i>P. putida</i>	43
IV.1.2 Kandungan logam berat (Fe, Cu dan Zn) dalam tanah tercemar minyak bumi	45
IV.1.3 Kondisi pH, suhu dan DO	47
IV.2 Pembahasan.....	50
IV.2.1 Pola Pertumbuhan Bakteri <i>B. cereus</i> dan	

<i>P.putida</i>	50
IV.2.2 Kemampuan bakteri <i>B. cereus</i> dan <i>P. putida</i> dalam menyerap logam (Fe, Cu dan Zn) pada 10 % konsentrasi bakteri.....	58
IV.2.2.1 Profil Penurunan Logam (Fe, Cu dan Zn).....	59
IV.2.2.2 Perbandingan Efisiensi Penurunan Logam (Fe, Cu dan Zn) oleh Bakteri <i>B. cereus</i> dan <i>P.putida</i>	70
IV.2.2.3 Perbandingan Penurunan Logam (Fe, Cu dan Zn) Berdasarkan Selektivitas Kation.....	73
IV.2.3 Kemampuan bakteri <i>B. cereus</i> dan <i>P. putida</i> dalam menyerap logam (Fe, Cu dan Zn) pada 15 % konsentrasi bakteri.....	74
IV.2.3.1 Profil Penurunan Logam (Fe, Cu dan Zn).....	74
IV.2.3.2 Perbandingan Efisiensi Penurunan Logam (Fe, Cu dan Zn) oleh Bakteri <i>B. cereus</i> dan <i>P.putida</i>	84
IV.2.3.3 Perbandingan Penurunan Logam (Fe, Cu dan Zn) Berdasarkan Selektivitas Kation.....	85
IV.2.4 Perbandingan Kemampuan Bakteri <i>B. cereus</i> dan <i>P. putida</i> dalam Menyerap Logam Fe, Cu dan Zn antara 10% dan 15% (v/v).....	85
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	89
DAFTAR PUSTAKA.....	xix
APPENDIKS	A-1
LAMPIRAN	

Halaman ini sengaja dikosongkan

DAFTAR TABEL

Tabel II.1	Komposisi Non-hidrokarbon Minyak Bumi	7
Tabel II.2	Batas Krisis Konsentrasi Logam pada Tanah.....	9
Tabel II.3	Beberapa Mikroorganisme Pembiosorpsi Logam	22
Tabel II.4	Penelitian-Penelitian Terdahulu	28
Tabel III.1	Pengamatan Rutin selama Proses Bioremediasi	37
Tabel IV.1	Pertumbuhan Bakteri <i>B.cereus</i> dan <i>P.putida</i> Menggunakan Metode <i>Counting Chamber</i>	43
Tabel IV.2	Penurunan Konsentrasi Logam Fe, Cu dan Zn pada 10% Konsentrasi Bakteri	46
Tabel IV.3	Penurunan Konsentrasi Logam Fe, Cu dan Zn pada 15% Konsentrasi Bakteri	46
Tabel IV.4	Data Pengamatan Suhu, pH dan DO pada Variabel 10% Bakteri	47
Tabel IV.5	Data Pengamatan Suhu, pH dan DO pada Variabel 15% Bakteri	49
Tabel IV.6	Rate Biosorpsi Logam Fe Hingga Hari Ke-21 ...	60
Tabel IV.7	Rate Biosorpsi Logam Cu Hingga Hari Ke-21 ..	64
Tabel IV.8	Rate Biosorpsi Logam Zn Hingga Hari Ke-21...	67
Tabel IV.9	Efisiensi Penurunan Konsentrasi Logam Fe, Cu dan Zn	72
Tabel IV.10	Penurunan Konsentrasi Logam Fe, Cu dan Zn...	74
Tabel IV.11	Rate Biosorpsi Logam Fe Hingga Hari Ke-20 ...	74
Tabel IV.12	Rate Biosorpsi Logam Cu Hingga Hari Ke-20 ..	78
Tabel IV.13	Rate Biosorpsi Logam Zn Hingga Hari Ke-20...	81
Tabel IV.14	Efisiensi Penurunan Konsentrasi Logam Fe, Cu dan Zn	84
Tabel IV.15	Perbandingan Efisiensi Penurunan Logam Fe, Cu dan Zn antara Variabel 10% dan 15% Bakteri	86

Halaman ini sengaja dikosongkan

DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1	Mekanisme Pengolahan Logam oleh Bakteri.....	17
Gambar II.2	Dinding Sel Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif.....	19
Gambar II.3	Kurva Pertumbuhan Bakteri.....	21
Gambar II.4	<i>Bacillus cereus</i>	23
Gambar II.5	<i>Pseudomonas putida</i>	24
Gambar III.1	Rangkaian Alat Slurry Bioreactor	33
Gambar III.2	Proses Bioremediasi Logam dalam Bioremediasi	37
Gambar III.3	Diagram Prosedur Penelitian Bioremediasi	38
Gambar III.4	pH-meter Type WTW pH7110	39
Gambar III.5	DO-meter Type Crison OXI 45P	39
Gambar III.6	Hematisometer (<i>Counting Chamber</i>).....	40
Gambar IV.1	Grafik Pertumbuhan Bakteri pada 3 Variabel Konsentrasi <i>B. cereus</i> dan <i>P. putida</i> untuk Variabel 10% bakteri.....	44
Gambar IV.2	Grafik Pertumbuhan Bakteri pada 3 Variabel Konsentrasi <i>B. cereus</i> dan <i>P. putida</i> untuk Variabel 15% bakteri.....	45
Gambar IV.3	Grafik Perbandingan pH dengan Pertumbuhan Bakteri pada Variabel Bakteri <i>Bacillus cereus</i> dengan Variabel 15% Bakteri	53
Gambar IV.4	Perbandingan DO dengan Pertumbuhan Bakteri pada Variabel Bakteri Campuran 1:1 dengan Variabel 15% Konsentrasi Bakteri	54
Gambar IV.5	Grafik Perbandingan BOD dengan Pertumbuhan Bakteri terhadap Waktu pada Bakteri <i>B.cereus</i> dengan Variabel 15% Konsentrasi Bakteri	56
Gambar IV.6	Grafik Perbandingan BOD dengan Pertumbuhan Bakteri terhadap Waktu pada Bakteri <i>B. cereus</i> : <i>P.putida</i> = 1:1 dengan Variabel 15% Bakteri.....	56

Gambar IV.7	Grafik Perbandingan BOD dengan Pertumbuhan Bakteri terhadap Waktu pada Campuran Bakteri <i>P. putida</i> dengan Variabel 15% Bakteri	57
Gambar IV.8	Grafik Biosorpsi Logam Fe dan Pertumbuhan Bakteri <i>B. cereus</i> terhadap Waktu pada Variabel 10% Bakteri	61
Gambar IV.9	Grafik Biosorpsi Logam Fe dan Pertumbuhan Bakteri Campuran 1:1 terhadap Waktu pada Variabel 10% Bakteri	62
Gambar IV.10	Grafik Biosorpsi Logam Fe dan Pertumbuhan Bakteri <i>P. putida</i> terhadap Waktu pada Variabel 10% Bakteri	62
Gambar IV.11	Grafik Biosorpsi Logam Cu dan Pertumbuhan Bakteri <i>B. cereus</i> terhadap Waktu pada Variabel 10% Bakteri	65
Gambar IV.12	Grafik Biosorpsi Logam Cu dan Pertumbuhan Bakteri Campuran 1:1 terhadap Waktu pada Variabel 10% Bakteri	65
Gambar IV.13	Grafik Biosorpsi Logam Cu dan Pertumbuhan Bakteri <i>P. putida</i> terhadap Waktu pada Variabel 10% Bakteri	66
Gambar IV.14	Grafik Biosorpsi Logam Zn dan Pertumbuhan Bakteri <i>B. cereus</i> terhadap Waktu pada Variabel 10% Bakteri	68
Gambar IV.15	Grafik Biosorpsi Logam Zn dan Pertumbuhan Bakteri Campuran 1:1 terhadap Waktu pada Variabel 10% Bakteri	69
Gambar IV.16	Grafik Biosorpsi Logam Zn dan Pertumbuhan Bakteri <i>P. putida</i> terhadap Waktu pada Variabel 10% Bakteri	69
Gambar IV.17	Grafik Biosorpsi Logam Fe dan Pertumbuhan Bakteri <i>B. cereus</i> terhadap Waktu pada Variabel 15% Bakteri	76

Gambar IV.18	Grafik Biosorpsi Logam Fe dan Pertumbuhan Bakteri Campuran 1:1 terhadap Waktu pada Variabel 15% Bakteri	76
Gambar IV.19	Grafik Biosorpsi Logam Fe dan Pertumbuhan Bakteri <i>P. putida</i> terhadap Waktu pada Variabel 15% Bakteri	77
Gambar IV.20	Grafik Biosorpsi Logam Cu dan Pertumbuhan Bakteri <i>B. cereus</i> terhadap Waktu pada Variabel 15% Bakteri	79
Gambar IV.21	Grafik Biosorpsi Logam Cu dan Pertumbuhan Bakteri Campuran 1:1 terhadap Waktu pada Variabel 15% Bakteri	79
Gambar IV.22	Grafik Biosorpsi Logam Cu dan Pertumbuhan Bakteri <i>P. putida</i> terhadap Waktu pada Variabel 15% Bakteri	80
Gambar IV.23	Grafik Biosorpsi Logam Zn dan Pertumbuhan Bakteri <i>B. cereus</i> terhadap Waktu pada Variabel 15% Bakteri	82
Gambar IV.24	Grafik Biosorpsi Logam Zn dan Pertumbuhan Bakteri Campuran 1:1 terhadap Waktu pada Variabel 15% Bakteri	83
Gambar IV.25	Grafik Biosorpsi Logam Zn dan Pertumbuhan Bakteri <i>P. putida</i> terhadap Waktu pada Variabel 15% Bakteri	83
Gambar IV.26	Grafik Perbandingan Efisiensi Biosorpsi logam Fe, Cu dan Zn antara Variabel 10% dan 15% Bakteri	87

Halaman ini sengaja dikosongkan

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Perkembangan pesat ekonomi dunia, membuat kebutuhan akan energi manusia terus meningkat. Setiap negara mempercepat eksploitasi dan penggunaan sumber daya minyak dan gas, menyebabkan semakin banyak sumur minyak dan gas muncul di seluruh dunia. Selama proses eksplorasi, eksploitasi, produksi, transportasi, penyimpanan, dan proses pemurnian, *oil-well blowing*, kebocoran dan seterusnya, akan membawa dampak kontaminasi pada tanah (Chun-rong dkk,2013; Hu dkk,2013). Residu yang diperoleh dalam proses pengolahan minyak bumi telah menjadi perhatian dalam beberapa tahun terakhir. Residu tersebut mengandung hidrokarbon minyak bumi berkonsentrasi tinggi dan logam – logam berat. Permintaan global akan minyak bumi dan produk-produknya telah mengakibatkan efek yang merugikan pada lingkungan ekosistem dan masalah umum baru serta menyebabkan kerusakan pada ekosistem air dan tanah, kesehatan manusia dan sumber daya alam serta lingkungan lainnya (Tang dkk, 2011;Akpoveta dkk,2011). Walaupun pencemaran ini memiliki konsentrasi hidrokarbon dan logam yang rendah, tetapi sangat mempengaruhi bau dan rasa dari air tanah (Chator dan Somerville, 1978)

Untuk kasus tanah-tanah terkontaminasi logam-logam berat akibat aktivitas manusia dalam industri-industri penambangan sudah mulai terasa dampaknya bagi lingkungan ekologi tanah. Lingkungan tanah yang terkontaminasi logam berat merupakan salah satu kendala utama, karena adanya saling interaksi secara langsung maupun tidak langsung dengan organisme di atas permukaan tanah (manusia, tumbuhan, binatang) maupun di dalam tanah (mikroorganisme). Pada beberapa daerah di Indonesia, kasus tanah terkontaminasi logam

berat sebagian besar disebabkan oleh kondisi lingkungan alam yang sejak awalnya telah didominasi oleh unsur logam hasil pelapukan batuan mineral..

Pemanfaatan mikroorganisme akhir-akhir ini dalam mengurangi efek toksik logam pada tanah terkontaminasi telah menjadi perhatian para peneliti karena lebih bersifat ramah lingkungan. Secara alami, suatu ekosistem alam mempunyai mekanisme dalam mengurangi bahaya alami, suatu ekosistem alam mempunyai mekanisme dalam mengurangi bahaya kontaminasi logam berat. Bila kontaminasi logam berat berlebihan, terjadi akumulasi dan bersifat toksik, sehingga akan terjadi ketidakseimbangan di dalam suatu ekosistem. Dalam hal ini peranan mikroorganisme dalam mengatasi permasalahan lingkungan terkontaminasi logam berat akan sangat membantu.

Proses bioremediasi mengarah pada proses penghilangan senyawa yang tidak diinginkan dari tanah, lumpur, air tanah atau air permukaan sehingga lingkungan tersebut kembali bersih dan alamiah dengan menggunakan mikroba (Ghorbani *et al*, 2002). Mikroba yang hidup di tanah dan di air tanah dapat “memakan” bahan kimia berbahaya tertentu, misalnya berbagai jenis minyak. Mikroba mengubah bahan kimia ini menjadi air dan gas yang tidak berbahaya misalnya CO₂. Bakteri inilah yang memegang peranan penting dalam bioremediasi lingkungan yang tercemar limbah minyak bumi. Bioremediasi bertujuan untuk memecah atau mendegradasi zat pencemar menjadi bahan yang kurang beracun atau tidak beracun (Fardiaz, 1992).

Istilah bioremediasi digunakan untuk menggambarkan pemanfaatan mikroorganisme perombak polutan untuk membersihkan lingkungan tercemar. Kemampuan perombakan tersebut berkaitan dengan kehadiran plasmid microbial yang mengandung gen-gen penyandi berbagai enzim perombak polutan. Proses bioremediasi didasari oleh dekomposisi bahan organik di biosfer yang dilakukan oleh bakteri dan jamur heterotropik. Mikroorganisme ini memiliki kemampuan memanfaatkan senyawa organik alami sebagai sumber karbon dan

energy. Proses dekomposisi yang terjadi menghasilkan karbon dioksida, metan, air, biomassa mikroba dan hasil sampingan yang lebih sederhana dibanding dengan senyawa awalnya. Bioremediasi dipilih sebagai teknologi remediasi unggulan karena teknologi ini mempunyai beberapa keuntungan dan dapat menyelesaikan permasalahan pencemaran lingkungan secara murah dan tuntas. (Fardiaz, 1992)

Berdasarkan konsep pengembangan perancangan bioremediasi dapat dilakukan secara *in situ* dan *ex situ*. Bioremediasi *in situ* disebut juga *intrinsic bioremediasi* yang hanya mengandalkan kemampuan mikroorganisme indigenous yang telah ada di lingkungan tercemar limbah untuk mendegradasinya. Bioremediasi *ex situ* disebut juga *above ground treatment* merupakan proses bioremediasi yang dilakukan dengan cara memindahkan kontaminan ke suatu tempat untuk memberikan perlakuan (Capuccino, 1983).

Bioremediasi dengan cara *in situ* dapat dilakukan secara terekayasa maupun alami. Bioremediasi *in situ* secara alami tidak perlu penambahan nutrient, hanya dengan memanfaatkan kemampuan dari bakteri indigenous yang terdapat pada lahan tercemar tersebut sedangkan terekayasa dengan disertai penambahan oksigen, nutrisi ataupun bakteri. Bioremediasi *in situ* secara rekayasa dapat melalui mekanisme biostimulasi (penambahan oksigen dan nutrient) dan dengan mekanisme bioaugmentasi (penambahan oksigen, nutrient dan bakteri). Mekanisme biostimulasi dapat melalui air sparging (pemompaan udara untuk meningkatkan aktivitas degradasi oleh mikroba) (Capuccino, 1983)

Bioremediasi secara *ex situ* dapat dilakukan melalui beberapa cara yaitu dengan metode *landfarming*, *composting*, *biopile* dan *bioreactor*. Mekanisme *landfarming* adalah dengan memindahkan tanah yang terkena kontaminasi ke permukaan lapangan yang diberi perlakuan dengan penambahan bakteri, air, udara dan nutrisi. Cara ini yang paling sering digunakan. *Composting* adalah penyampuran limbah dengan jerami atau

bahan lain untuk mempermudah masuknya air, udara dan nutrisi. Biopile adalah salah satu cara bioremediasi dengan mengangkat tanah tercemar ke permukaan, ditumpuk dan diberi perlakuan penambahan air, udara, dan nutrient. Mekanisme bioremediasi ex situ dengan cara bioreactor adalah mekanisme bioremediasi menggunakan bejana besar sebagai bioreaktor yang mengandung tanah, air nutrisi dan udara yang dapat membuat mikroba aktif mendegradasi senyawa pencemar (Capuccino, 1983)

Mikroorganisme yang baru-baru ini ditemukan memiliki kemampuan mengadsorpsi logam adalah *Bacillus cereus*. *Bacillus cereus* memiliki karakter berbentuk batang, gram positif, aerob, motil, memiliki endospora (spora pusat tunggal) dengan katalase positif dan aktivitas oksidase. Bakteri ini mampu mereduksi kandungan logam dari limbah. *Bacillus cereus* memiliki kemampuan untuk menggunakan logam berat yang terdapat dalam limbah untuk digunakan sebagai bahan metabolismenya. *Bacillus cereus* merupakan bakteri gram positif yang secara alami mengandung dinding yang bermuatan negative. Ini dikarenakan kandungan fosfat dan asam teikoat yang mengikat dan mengatur pergerakan kation melewati membrane. Sehingga logam-logam bermuatan positif yang terlarut di dalam limbah akan terikat oleh membran bakteri. Selain sifat muatan dindingnya, terdapat pula gugus carboxyl, amine, hydroxyl, phosphate dan sulfhydryl yang terkandung dalam permukaan sel tersebut memiliki potensi untuk mengadsorpsi logam berat yang terkandung dalam limbah. Jika dibandingkan dengan beberapa bakteri lainnya yang diteliti, *Bacillus cereus* memiliki kemampuan resistensi yang paling tinggi terhadap kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan.

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, *Bacillus cereus* memiliki resistensi terhadap logam Cu dan Pb. Kemampuan *Bacillus cereus* tumbuh pada medium mengandung Pb disebabkan karena adanya transport aktif logam Pb. Genera *Bacillus cereus* resisten terhadap logam Cu karena logam Cu merupakan logam esensial bagi bakteri. Kemampuan bakteri *Bacillus cereus* resisten terhadap Cu karena adanya gen dalam

plasmid dan kromosom yang mengkode resistensi terhadap logam Cu yaitu *gen cop-operon* (Silver, 1996).

Selain *Bacillus cereus*, *Pseudomonas putida* juga memiliki resistensi terhadap beberapa logam berat yaitu Pb dan Zn. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Pseudomonas putida* memiliki angka removal untuk logam Pb dan Zn yaitu 2,01 % dan 6,5% berturut-turut. (Nurul, 2014). Pada penelitian lain, juga menunjukkan bahwa *Pseudomonas putida* merupakan rizobakteri yang dapat menghasilkan siderofor (senyawa pengompleks Fe). Sehingga bakteri *Pseudomonas putida* dapat menghilangkan kandungan logam Fe pada tanah. (Nurul, 2014)

Dalam rangka untuk mencegah pencemaran logam pada tanah dalam konsentrasi rendah maupun tinggi, maka diperlukan suatu metode yang efektif, efisien, ekonomis dalam mengolah polutan dan tidak merusak lingkungan. Dengan pengembangan proses secara biologis, bioremediasi logam berat di tanah oleh mikroorganisme (bakteri) aerobik *bacillus cereus* dan *pseudomonas putida* strain lokal pada lingkungan tercemar.

I.2 Perumusan Masalah

Pelepasan hidrokarbon minyak ke dalam lingkungan baik secara tidak sengaja ataupun karena kegiatan manusia adalah penyebab utama dari pencemaran tanah (Holliger dkk, 1997; Das & Chandran, 2011). Teknologi yang digunakan untuk remediasi logam dan kontaminasi dapat dilakukan dengan proses fisika kimia. Namun, teknologi ini mahal dan dapat menyebabkan dekomposisi atau *breakdown* tidak lengkap dari kontaminan.

Berdasarkan uraian tersebut, maka rumusan masalah yang perlu disusun adalah

Adanya kandungan logam berat (Cu, Zn, Fe) pada oil sludge hasil eksplorasi minyak bumi yang dapat mencemari lingkungan dan masih belum dapat dihilangkan secara maksimal

I.3 Batasan Masalah

Dalam penelitian ada beberapa hal yang menjadi pertimbangan untuk dibatasi permasalahannya diantaranya adalah:

1. Oil sludge mengandung logam berat (Cu, Zn, Fe)
2. Mikroorganisme yang digunakan adalah bakteri *bacillus cereus* dan *pseudomonas putida*.
3. Pola pengelolaan tanah tercemar minyak bumi menggunakan metode bioremediasi *ex-situ* yang diaplikasikan pada *slurry phase bioreactor*.

I.4 Tujuan Penelitian

Menentukan efisiensi bioremediasi sebagai fungsi konsentrasi logam dengan parameter pengukuran kandungan logam, pH, temperature dan konsentrasi bakteri pada pengolahan tanah yang terkontaminasi minyak bumi secara bioremediasi *ex situ* (*slurry phase bioreactor*)

1.5. Manfaat Penelitian

1. Mengurangi kadar logam pada tanah tercemar minyak bumi hasil bioremediasi *ex-situ*
2. Informasi awal mengenai pemanfaatan kombinasi dua bakteri aerobik tersebut sebagai pemecah minyak bumi dalam proses biodegradasi dan diharapkan dapat diaplikasikan di lapangan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Minyak Bumi dan Komposisinya (*Crude Oil*)

Secara harfiah, minyak bumi (juga disebut minyak mentah) adalah campuran gas, liquid dan senyawa hidrokarbon padat. Minyak bumi juga mengandung sejumlah kecil nitrogen, oksigen, dan senyawa sulfur dan beberapa logam, khususnya vanadium, nikel, besi dan tembaga. Menurut Teori Pembentukan Minyak Bumi, khususnya Teori Binatang Engler dan Teori Tumbuh-tumbuhan (Hofer,1996), senyawa- senyawa organik penyusun minyak bumi merupakan hasil alamiah proses dekomposisi tumbuh-tumbuhan selama berjuta-juta tahun. Oleh karena itu, minyak bumi juga dikenal sebagai bahan bakar fosil, selain batu bara dan gas alam (Nugroho, 2006).

Selain tersusun oleh komponen hidrokarbon, minyak bumi juga mengandung komponen non hidrokarbon. Kandungan komponen senyawa hidrokarbon relatif lebih besar daripada kandungan komponen senyawa non hidrokarbon. Komponen non hidrokarbon dapat berupa unsur-unsur logam atau yang sifatnya menyerupai logam, serta komponen organik lainnya yang bukan hidrokarbon, seperti belerang, nitrogen, oksigen (Nugroho, 2006).

Table II.1 Komposisi Non-hidrokarbon Minyak Bumi

Nama Unsur	Konsentrasi dalam Minyak Bumi (µg/l)	Nama Unsur	Konsentrasi dalam Minyak Bumi (µg/l)
Helium	Ada	Gallium	11 – 810
Beryllium	Jarang	Germanium	≤ 100
Boron	$(7,2 - 10^4) \times 10^3$	Arsen	$2 - 2 \times 10^3$
Nitrogen :		Selenium	$9 - 1,4 \times 10^3$
- N2	$2,8 \times 10^3$	Brom	$72 - 2,2 \times 10^3$

- NO ₃	$9,5 \times 10^5$	Rubidium	10 – 720
- Sebagai organik	$1,0 \times 10^5 - 9,0 \times 10^6$	Strontium	0,35 – 250
Oksigen	Ada	Yttrium	unsur langka
Sodium	≤ 20	Zirconium	2,4 – 9,8
Magnesium	$0,5 - 2,8 \times 10^4$	Molibdenum	$1 - 7,3 \times 10^3$
Aluminium	$34 - 1,2 \times 10^3$	Perak	Unsur langka
Silikon	$24 - 2,1 \times 10^3$	Cadmium	0,2 – 29
Fosfor	$3,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^4$	Indium	< 0,1
Sulfur	$< 9,8 \times 10^4$	Timah	5×10^3
Khlorin	$1,0 \times 10^4 - 5,5 \times 10^7$	Antimony	6 – 300
Argon	$1,1 \times 10^3 - 1,0 \times 10^6$	Iodine	$10 - 9,0 \times 10^3$
Potassium	Ada	Cesium	4 – 68
Kalsium	$390 - 7,7 \times 10^3$	Barium	0,2 – 308
Scandium	$< 1,9 \times 10^5$	Lanthanum	0,03 – 39
Titanium	0,27 – 200	Cerium	Unsur langka
Vanadium	0,4 – 230	Ncodimium	Unsur langka
Chromium	$24 - 1,3 \times 10^6$	Samarium	< 0,78
Mangan	1,4 – 690	Europium	0,6 – 23,2
Besi	$0,14 - 3,8 \times 10^3$	Dysprosium	Unsur langka
Cobalt	$20 - 1,2 \times 10^5$	Rhenium	< 200
Nikel	$1,3 - 1,4 \times 10^4$	Emas	$2,4 \times 10^{-2} - 3,0$
Copper	$27 - 3,4 \times 10^3$	Merkuri	$23 - 3,0 \times 10^4$
Zink	$3,5 - 6,3 \times 10^3$	Timbal	0,5 – 430
Uranium	$1 \times 10^{-2} - 434$	Bismuth	Unsur langka

(Sumber : Clark dalam Garlach, 1981)

II.2 Pencemaran Lingkungan oleh Minyak Bumi dan Dampaknya

Dalam UU No. 23/1997 dan PP No. 18/1999 disebutkan bahwa limbah minyak bumi termasuk kategori bahan berbahaya dan beracun (B3). Produsen dilarang menyimpannya terlalu lama tanpa pengolahan. Selain itu, produsen diwajibkan segera mengolahnya menjadi komponen yang tidak berbahaya dalam waktu 90 hari sejak limbah dihasilkan. Kontaminasi tanah adalah masalah utama di banyak lokasi industri yang berurusan dengan produksi, pemrosesan, penyimpanan minyak dan petrokimia. Sering, kontaminasi terjadi secara tidak disengaja, kebocoran bahan atau produk (Nikakhtari dkk, 2008).

Berdasarkan ketetapan Menteri Populasi dan Lingkungan Indonesia, batas krisis konsentrasi logam berat pada tanah dapat dilihat pada tabel II.2 sebagai berikut :

Table II.2 Batas Kritis Konsentrasi Logam pada Tanah

Logam Berat	Batas Kritis (ppm)
Pb	100
Cd	0,5
Co	10
Cr	2,5
Ni	50
Cu	2
Mn	1500
Zn	7
Fe	50

(Sumber: *Ministry of state for population and Enviromental of Indonesia*,1992)

Menurut Bossert dan Bartha (1984) jenis dan asal pencemaran minyak bumi di tanah dapat terjadi melalui beberapa hal berikut, yaitu rembesan limbah alam berupa minyak dan gas bumi, kecelakaan yang mengakibatkan rembesan atau tumpahan minyak dan pembuangan limbah minyak.

1. Rembesan Limbah Alam

Pelengkungan formasi geologi dapat menyebabkan minyak bumi meresap melalui celah-celah bebatuan menuju ke permukaan bumi walaupun tanpa proses pengeboran. Jumlahnya diperkirakan 600.000 ton/tahun akan masuk ke perairan.

2. Rembesan dan Tumpahan Minyak Bumi Akibat Kecelakaan
Pada skala besar kecelakaan terjadi pada sumur-sumur bor minyak bumi dan pecahnya pipa-pipa pengangkutan minyak sedangkan pada skala kecil sering terjadi pada proses pengangkutan dengan mobil-mobil tanker dan bocornya katup atau kran-kran kilang minyak.
3. Pembuangan Limbah Minyak Bumi
Pembuangan limbah minyak dari pabrik pemurnian minyak bumi, dasar tanki penyimpanan dan operasi pembersihan tumpahan minyak akan menghasilkan lumpur berminyak (*oil sludge*) dimana faktor teknologi dan ekonomi sering menjadi kendala dalam penanganannya.

II.3 Tinjauan Umum Tentang Logam Berat

Terdapat 80 jenis dari 109 unsur kimia di muka bumi ini yang telah teridentifikasi sebagai jenis logam berat. Berdasarkan sudut pandang toksilogi, logam berat ini dapat dibagi dalam 2 jenis. Jenis pertama adalah logam berat esensial, dimana keberadaannya dalam jumlah tertentu sangat dibutuhkan oleh organism hidup, namun dalam jumlah yang berlebihan dapat menimbulkan efek racun. Contoh logam berat ini adalah Zn, Cu, Fe, Co, Mn dan lain sebagainya. Sedangkan jenis kedua adalah logam berat tidak esensial atau beracun, dimana keberadaannya dalam tubuh masih belum diketahui manfaatnya atau bahkan dapat bersifat racun, seperti Hg, Cd, Pb, Cr dan lain-lain. Logam berat ini dapat menimbulkan efek kesehatan bagi manusia tergantung pada bagian mana logam berat tersebut terikat dalam tubuh. Daya racun yang dimiliki akan bekerja sebagai penghalang kerja enzim, sehingga proses metabolisme tubuh terputus. Lebih jauh lagi, logam berat ini akan bertindak sebagai penyebab alergi,

mutagen, teratogen atau karsinogen bagi manusia. Jalur masuknya adalah melalui kulit, pernapasan dan pencernaan (Vouk, 1986)

1. Tinjauan umum logam besi (Fe)

Besi atau ferum (Fe) adalah metal berwarna putih keperakan, liat, dan dapat dibentuk. Besi sangat penting sebagai komponen pigmen sitokrom pada respirasi seluler dan sebagai kofaktor enzim pada mikroorganisme. Namun besi dalam konsentrasi tinggi yang mencemari lingkungan dapat menimbulkan bahaya bagi organisme. Keberadaan besi pada kerak bumi menempati posisi keempat terbesar.

2. Tinjauan umum logam tembaga (Cu)

Tembaga (Cu) merupakan unsure logam yang berwarna merah kecoklatan yang mana merupakan logam yang paling luas penggunaannya. Cu merupakan salah satu unsur transisi dengan dari tabel periodik dengan 3 bilangan oksidasi : Cu^0 , Cu^{1+} , dan Cu^{2+} . Ciri fisik dan kimia adalah sebagai berikut : nomor atom 29, berat jenis 8,9 g/cm³. Cu, seperti perak dan emas, merupakan logam mulia. Sifatnya meliputi panas dan konduktifitas elektrik yang tinggi, korosi rendah, mempunyai kemampuan untuk bercampur dan kelenturan, semua itu menjadi sangat bermanfaat pada bagian tujuan industri yang luas.

3. Tinjauan umum logam seng (Zn)

Seng merupakan logam yang berwarna putih kebiruan, berkilau, dan bersifat diamagnetic. Walau demikian, kebanyakan seng yang bermutu komersial tidak berkilau. Seng sedikit kurang padat daripada besi dan berstruktur Kristal heksagonal. Logam ini keras dan rapuh pada kebanyakan suhu, namun menjadi dapat ditempa antara 100 sampai 150 °C. Di atas 210 °C, logam ini kembali menjadi rapuh dan dapat dihancurkan menjadi bubuk dengan memukul-mukulnya. Seng juga mampu menghantarkan listrik dibandingkan dengan logam-logam lainnya. Seng memiliki titik lebur (420 °C) dan titik didih (900 °C) yang relative rendah. Dan sebenarnya pun, titik lebur seng merupakan yang terendah di antara semua logam-logam transisi selain raksa dan cadmium. (Widowati, 2008). Fungsi seng terbilang sangat penting bagi

kelangsungan hidup sel-sel tubuh manusia. Seng berperan penting dalam menyusun struktur protein dan membrane sel, serta dibutuhkan dalam sintesis DNA, replikasi DNA dan transkripsi RNA (Widowati dkk, 2008)

II.4 Bioremediasi

Metode dalam proses bioremediasi ada dua, antara lain :

1. Metode Fisika/Mekanik dan Kimia

Metode fisika/mechanik adalah pilihan utama untuk pembersihan tumpahan minyak tetapi pemulihannya hanya sekitar 10–15%. Strategi fisika termasuk penggunaan *booms*, *skimmers*, mencuci, memotong vegetasi dan pembakaran. Metode kimia, termasuk penerapan *dispersants*, *demulsifiers*, *biosurfactants*, *surface film chemicals* dan *cleaner*, telah dikembangkan di masa lalu selama dua dekade. Sering, *bioavailability* dari minyak mentah meningkat setelah aplikasi metode kimia (Zahed dkk, 2011).

2. Metode Biologi

Bioremediasi secara biologi adalah suatu metode modern dimana kemampuan alami mikroorganisme digunakan untuk mengurangi konsentrasi dan/atau racun dari berbagai bahan-bahan kimia, seperti turunan minyak bumi, hidrokarbon alifatik dan aromatik, pelarut-pelarut industri, pestisida dan logam (Milic dkk, 2009).

Secara umum bioremediasi dimaksudkan sebagai penggunaan mikroba untuk menyelesaikan masalah-masalah lingkungan atau untuk menghilangkan senyawa-senyawa yang tidak diinginkan dari tanah, lumpur, air tanah atau air permukaan sehingga lingkungan tersebut kembali bersih dan alamiah (Fardiaz, 1992).

Bioremediasi, “proses dimana limbah organik secara biologis di degradasi di bawah kondisi terkontrol menjadi keadaan yang tidak berbahaya” (Bamforth dan Singleton, 2005; Carrera, 2010), menawarkan alternatif pengolahan selain fisika

dan kimia pada tanah yang terkontaminasi. Teknologi *in situ* dan *ex situ* dapat diterapkan di banyak model yang berbeda, baik dengan menambahkan nutrisi, biasanya nitrogen dan fosfor, dan/atau oksigen untuk merangsang degradasi mikroba asli (biostimulasi) atau dengan memperkenalkan mikroorganisme eksogen untuk meningkatkan proses degradasi (bioaugmentasi) (Carrera, 2010).

Jenis-jenis bioremediasi dapat dibedakan menjadi dua yaitu bioremediasi yang melibatkan mikroba dan bioremediasi berdasarkan lokasinya.

1. Bioremediasi yang melibatkan mikroba

Teknologi bioremediasi dalam menstimulasi pertumbuhan mikroba dilakukan dengan tiga cara yaitu :

a. Biostimulasi

Biostimulasi adalah suatu proses yang dilakukan melalui penambahan zat gizi tertentu yang dibutuhkan oleh mikroorganisme (misalnya nutrient dan oksigen) atau menstimulasi kondisi lingkungan sedemikian rupa (misalnya pemberian aerasi) agar mikroorganisme tumbuh dan beraktivitas lebih baik.

b. Bioaugmentasi

Bioaugmentasi merupakan penambahan atau introduksi satu jenis atau lebih mikroorganisme baik yang alami maupun yang sudah mengalami perbaikan sifat. Mikroorganisme yang dapat membantu membersihkan kontaminan tertentu kemudian ditambahkan ke dalam air atau tanah yang tercemar. Tetapi proses ini mempunyai hambatan yaitu sangat sulit untuk mengontrol kondisi situs yang tercemar agar mikroorganisme dapat berkembang dengan optimal, karena mikroorganisme yang dilepaskan ke lingkungan yang asing kemungkinan sulit untuk mengontrol kondisi situs yang tercemar agar mikroorganisme yang dilepaskan ke lingkungan yang asing kemungkinan sulit untuk beradaptasi.

c. Bioremediasi Intrinsik

Bioremediasi jenis ini terjadi secara alami (tanpa campur tangan manusia) dalam air atau tanah yang tercemar.

2. Bioremediasi berdasarkan lokasi

Bioremediasi berdasarkan lokasi dapat dilakukan secara *in-situ* dan *ex-situ*

a. Bioremediasi *In - situ*

Metode *in-situ* melibatkan remediasi material terkontaminasi dalam batas-batas wilayah dimana awalnya terkontaminasi. Teknik *in-situ* tidak membutuhkan penggalian tanah terkontaminasi, sehingga lebih murah, tidak berdebu, dan menyebabkan pelepasan kontaminan berkurang dibanding teknik *ex situ*. Namun, lebih lambat dibanding teknik *ex-situ*, sulit untuk dikelola, dan adalah paling efektif sebagai lokasi dengan tanah permeabel (berpasir dan tidak kokoh).

b. Bioremediasi *Ex - situ*

Bioremediasi *ex-situ* merupakan bioremediasi berlangsung setelah tanah terkontaminasi digali dan dipindahkan ke fasilitas tertentu untuk di olah (Robles-Gonzalez dkk, 2008). Bioremediasi *ex-situ*, jauh lebih berhasil, lebih cepat, lebih mudah untuk mengontrol, dan digunakan untuk mengolah berbagai jenis kontaminan yang lebih luas dibandingkan dengan teknik *in situ*. Tindakan penggalian tanah secara alami, meningkatkan permeabilitas dan porositasnya. Udara secara alami ditambahkan ke tanah seperti diaduk, dan sebagian besar dari efek kondisi tanah dan kimia dapat dikontrol. Ini biasanya cukup untuk merangsang aksi mikroba (Daniels dan Easterly, 2012).

II.5 Mekanisme Bioremediasi

Mekanisme bioremediasi logam Fe, Cu dan Zn adalah menggunakan proses biosorpsi. Biosorpsi dapat didefinisikan sebagai kemampuan dari materi biologi untuk mengakumulasi logam berat dari limbah melalui *metabolically mediated* atau kemampuan adsorpsi fisika – kimia dari materi biologi tersebut. Bakteri secara signifikan berpotensi untuk dijadikan sebagai

metal biosorbents. Proses biosorpsi adalah salah satu alternatif yang dapat digunakan untuk mengatasi masalah pencemaran. Keuntungan penggunaan metode biosorpsi adalah biayanya murah, biosorbennya mudah diperoleh dan ramah lingkungan karena menggunakan bahan biologis.

Proses biosorpsi terutama terjadi pada permukaan dinding sel (lapisan pertama dinding sel) dan permukaan eksternal lainnya melalui mekanisme kimia dan fisika. Interaksi antara logam dengan permukaan dinding sel biomassa organisme terjadi dengan kuat. Interaksi ini dapat berupa ikatan ionic, kovalen polar, dan kompleks. Dalam ikatan ini protein dan polisakarida berperan sebagai sumber gugus fungsi dalam mengikat ion logam (Hancock, 1996). Komponen dinding sel seperti *carboxyl*, *hydroxyl*, *phosphate*, *phosphodiester*, dan *thiolat*, merupakan gugus yang bermuatan negatif atau berfungsi sebagai anion (Gadd, 1990). Sedangkan gugus-gugus fungsi yang tidak bermuatan, seperti atom nitrogen pada *chitin* berfungsi sebagai ligan yang akan membentuk ikatan kompleks dengan ion logam, (gugus amida yang berkoordinasi dengan atom pusat logam melalui pasangan electron bebas) (Faison, 1992)

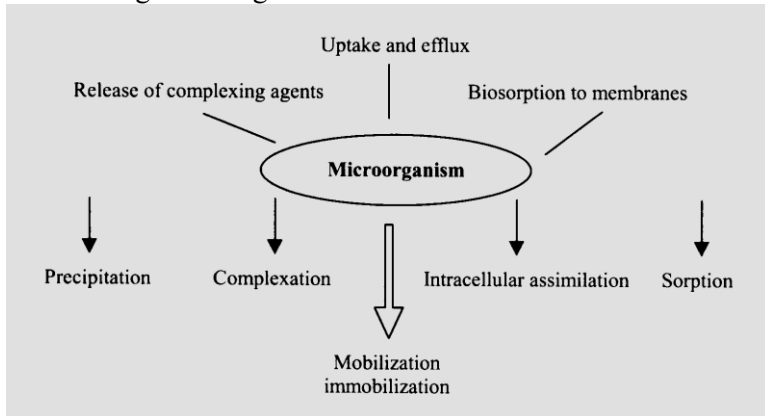
Interaksi kimia antara bakteri dengan logam dapat dibagi menjadi enam proses, yaitu : (1) akumulasi intraseluler, (2) asosiasi antara dinding sel dan logam, (3) interaksi logam dengan 'sidephore', (4) mobilisasi/imobilisasi logam secara ekstraseluler dengan menggunakan metabolit bacterial, (5) interaksi ekstraseluler antara logam polimer, (6) transformasi dan volatilitas logam (Mitchell, 1992).

Kemampuan mengakumulasi logam berat oleh bakteri disebabkan adanya kemampuan bakteri dalam menurunkan toksisitas logam berat tersebut atau bahkan menghilangkannya. Mekanisme pengolahan logam oleh mikroorganisme antara lain seperti tertera pada Gambar II.1. Cara yang dilakukan adalah dengan :

1. Mengeluarkan cairan ekstra seluler yang selanjutnya bereaksi dengan logam berat tersebut dan kemudian

- logam berat yang ada diendapkan di sekeliling sel dalam bentuk selongsong (Suriawiria, 1993)
2. Logam berat tersebut ikut dalam metabolisme sel bakteri. Logam berat tersebut mengalami proses biotransformasi destruktif berupa reaksi reduksi dan kemudian membentuk molekul organik (Brock *et al*, 1991). Adanya kemampuan mengadakan biotransformasi didukung oleh adanya kemampuan bakteri dalam mensintesis enzim adaptif yang mengkatalisis reaksi biotransformasi tersebut (Suriawiria, 1993).
 3. Penyerapan logam berat oleh bakteri. Secara umum, terdapat dua jenis penyerapan logam berat oleh bakteri yaitu penyerapan logam yang tidak tergantung pada metabolisme (*metabolism-independent*) yang terjadi pada permukaan sel dan penyerapan logam yang bergantung pada metabolisme (*metabolism-dependent*) yang menyebabkan terakumulasinya logam di dalam sel (Hughes dan Poole, 1990). Gadd (1992) menambahkan bahwa pengambilan logam berat oleh bakteri dapat dipisahkan menjadi fase pengikatan dan transport aktif. Fase pengikatan tidak tergantung pada metabolisme sel yaitu adsorpsi melalui dinding sel atau permukaan eksternal, kemudian diikuti dengan transport aktif yang tergantung pada metabolisme sel di dalam sel. Adsorpsi adalah proses dimana atom, partikel atau molekul suatu zat terikat pada permukaan zat padat karena adanya gaya tarik menarik dari atom atau partikel pada lapisan bagian luar atau permukaan zat padat. Bagian luar dinding sel bakteri yang bermuatan negative akan mengikat ion logam berat dapat secara intraseluler sebagai akibat dari kenaikan permeabilitas membrane sel, khususnya ketika terjadi toksisitas. Proses pengambilan yang tidak dipengaruhi oleh metabolisme termasuk adsorpsi dapat disebut biosorpsi yang terjadi pada sel yang hidup maupun yang mati.

4. Pengikatan logam berat pada struktur sel bakteri (khususnya dinding sel) (Atlas dan Bartha, 1993). Dinding sel bakteri Gram positif dan Gram negative merupakan tempat kontak awal antara sel dengan lingkungan eksternal. Permukaan sel bakteri menyediakan area permukaan yang besar untuk interaksi dengan ion logam.



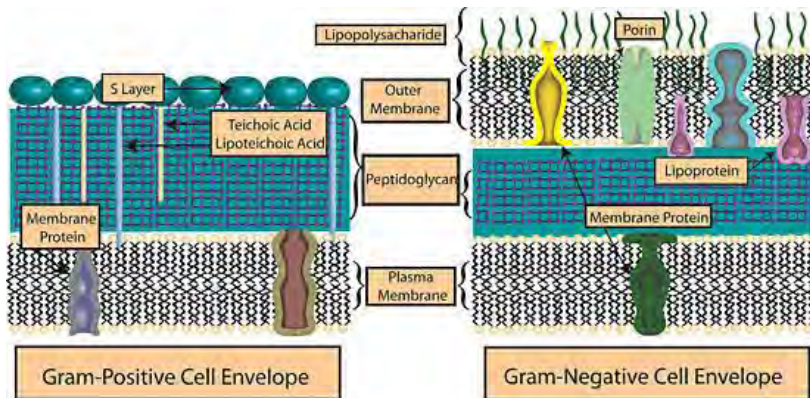
Gambar II.1 Mekanisme Pengolahan Logam oleh Mikroorganisme

Mekanisme pengikatan logam berat oleh bakteri Gram positif dan Gram dan Gram negatif berbeda.

1. Pada bakteri Gram positif, pengikatan logam terjadi karena adanya sifat anionic dari peptidoglikan dan polimer kedua yang menyusun permukaannya. Peptidoglikan merupakan komponen utama dari dinding sel dan terdiri dari enam komponen berbeda yaitu N-asetilglukosamin, asam N-asetilmuramik, L-alanin, D-alanin, asam D-glutamik dan L-Lysin (Salle, 1974; Peleazar dan Chan, 1986). Allen (1995) menambahkan bahwa batang peptide yang melekat pada sisa asam muramik kaya akan group karboksil dan memberikan tempat yang sangat reaktif terhadap penyerapan logam. Polimer kedua yang berperan

dalam penyerapan logam adalah asam “teichoic” atau asam “teichuronic” yang bersama dengan peptidoglikan merupakan bahan yang paling penting dalam hal kemampuan dinding untuk menyerap ion logam. Asam “teichoic” sendiri merupakan senyawa yang bermuatan negative kuat dan secara structural terikat pada peptidoglikan (William *et, al.*, 1995).

2. Pada bakteri Gram negatif, pengikatan logam nya melibatkan lapisan peptidoglikan dan membran luar yang terdiri dari struktur bilayer yang terdiri dari fosfolipid pada bagian dalam dan lipopolisakarid pada bagian luarnya. Membran ini merupakan membrane pertama yang berhadapan langsung dengan lingkungan luar dan konsekuensinya merupakan pertimbangan terpenting dalam pengikatan logam oleh bakteri Gram negatif (Allen, 1995). Ditambahkan oleh Hugjes dan Poole (1989) bahwa pengikatan logam berat oleh bakteri Gram negatif dapat ditemukan pada selubung sel atau pada komponen membran sel di bagian gugus fosfat dari lipopolisakarida. Ternyata bahwa pada bakteri Gram negatif adanya komponen lipopolisakarida dan peptidoglikan pada dinding sel membentuk tempat pengikatan kationik utama. Dinding sel bakteri Gram positif dan Gram negatif dapat dilihat pada gambar II.2



Gambar II.2 Dinding Sel Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif

II.6 Mikroba yang Berperan dalam Bioremediasi Logam Berat

II.6.1 Tinjauan Umum Bakteri

Bakteri merupakan sel prokariotik, uniseluler, dan tidak mengandung struktur yang terbatas membrane di dalam sitoplasmanya. Sel-selnya memiliki cirri berbentuk kokus, batang, atau spiral. Bakteri memiliki ukuran diameter antara $0,5 \mu\text{m} - 1,0 \mu\text{m}$ dan panjang $1,5 \mu\text{m} - 2,5 \mu\text{m}$. Reproduksi dilakukan secara asexual dengan pembelahan biner. Beberapa spesies atau genera dapat tumbuh pada suhu 0°C , ada pula yang tumbuh baik pada sumber air panas yang suhunya 90°C atau lebih. Kebanyakan tumbuh pada berbagai suhu diantara kedua suhu ekstrim ini. Bakteri menyebabkan berbagai perubahan kimiawi substansi (Pelczar dan Chan, 1981).

Berdasarkan letak susunan kimia dinding selnya, bakteri diklasifikasikan menjadi 2 jenis yaitu bakteri Gram positif dan Gram negatif.

1. Bakteri Gram Positif

Bakteri gram positif merupakan bakteri yang dinding selnya tersusun atas peptidoglikan dan komponen-komponen

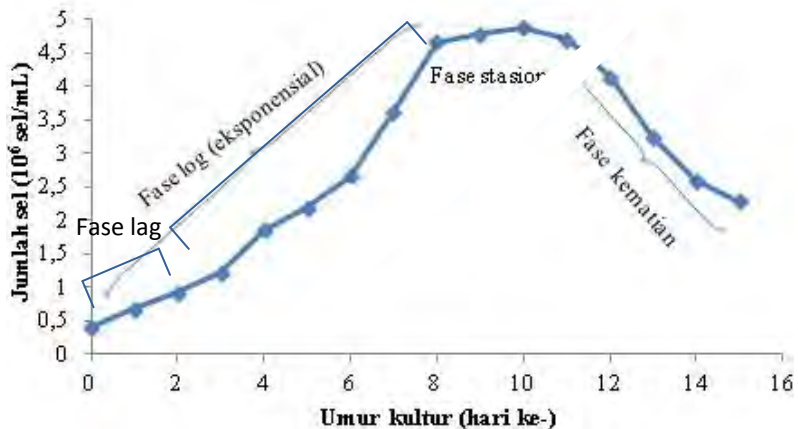
khusus yang berupa asam-asam teikoat dan teikuronat serta polisakarida. Bakteri gram positif memiliki *murein sacculus* (seluruh sel) terdiri dari 40 lapisan (tebal 15-80 nm), dinding sel tersusun atas peptidoglikan dan komponen – komponen khusus yang berupa asam-asam teikhoat dan teikhuronat yang sampai 50% berat kering dari dinding dan 10% berat kering dari total sel serta mengandung molekul polisakarida. Pada bakteri jenis ini, tidak memiliki selaput terluar, lipopolisakarida (endotoksin) dan *porin protein* serta *periplasm*, tetapi dinding selnya tebal. *murein* yang tebalnya hanya sekitar 2 nm dan memberikan kontribusi

1. Bakteri Gram Negatif

Bakteri gram negatif merupakan bakteri yang dinding selnya tersusun atas peptidoglikan dan komponen-komponen khusus yang berupa lipoprotein, selaput luar, dan lipopolisakarida (Jawetz et. al., 1996). Dinding sel bakteri Gram negatif memiliki *murein* yang tebalnya hanya sekitar 2 nm dan memberikan kontribusi hingga 10% dari dinding sel massa kering. Bagian luar membrane adalah elemen struktur yang menonjol. Ini berisi banyak protein (50% massa). Tersusun atas peptidoglikan sedang komponen – komponen khususnya berupa lipoprotein, selaput luar dan lipopolisakarida, tetapi dinding sel nya tipis. Lipopolisakarida menyebabkan berbagai reaksi komplemen yang dimediasi dan penurunan kadar komponen (C3, C5 – C9) (Kayser dkk, 2005; Jawetz dkk, 2015)

Pada pertumbuhan bakteri, selang untuk terbentuknya dua sel anakan dari satu sel induk dinamakan generasi dan waktu yang dibutuhkan untuk terjadinya pembelahan sel tersebut dinamakan waktu generasi. Waktu generasi tersebut berbeda-beda pada tiap jenis bakteri (Brock et. al., 1991). Hubungan antara jumlah sel dengan waktu pertumbuhan dapat dinyatakan dalam kurva pertumbuhan (Gambar II.3). Kurva pertumbuhan normal bakteri dibagi dalam empat fase yaitu fase permulaan (fase lag), fase logaritma (fase eksponensial), fase stasioner dan fase kematian. Fase lag (A) adalah fase yang mewakili waktu yang dibutuhkan oleh organisme untuk aklimatisasi dengan lingkungan

barunya, fase eksponensial (B) adalah fase pembelahan sel dimana sel akan membelah sampai jumlah maksimum sel tercapai. Lama fase eksponensial bervariasi tergantung pada organisme dan komposisi medium, rata-rata berkisar 6-12 jam. Fase stasioner (C) adalah fase dimana populasi bersifat stasioner. Terjadinya fase ini adalah karena sel kehabisan substrat/nutrien yang diperlukan untuk pertumbuhan, dan pertumbuhan sel-sel baru seimbang dengan kematian sel-sel lama sehingga jumlah sel konstan. Fase kematian (D) adalah fase yang terjadi karena kekurangan nutrisi yang berlanjut (Cappuccino dan Natalie, 1982).



Gambar II.3 Kurva Pertumbuhan Bakteri

II.6.2 Bakteri untuk Bioremediasi Logam

Beberapa mikroorganisme dapat mengurai atau mengubah bahan kimia yang ada dalam minyak bumi dan turunan minyak bumi. Logam dari minyak mentah mewakili substrat untuk mikroorganisme, maka ketika terjadi tumpahan minyak, jumlah mikroorganisme pendegradasi logam dalam ekosistem meningkat (Milic dkk, 2009). Mikroorganisme berperan penting dalam biotransformasi dari campuran tanah terkontaminasi selama proses bioremediasi. Ada dua pendekatan utama untuk

bioremediasi tumpahan minyak bumi: Bioaugmentasi (penambahan bakteri pendegradasi minyak) dan biostimulasi (merangsang pertumbuhan *indigenous oil degraders* dengan penambahan nutrisi atau *growth-promoting co-substrates* lain) (Gao dkk, 2014). Suatu mikroorganisme tunggal hanya dapat mendegradasi jenis tertentu dari senyawa minyak bumi, tetapi populasi campuran-komunitas mikrobial memungkinkan tingkat degradasi yang lebih tinggi (Milic dkk, 2009).

Jenis bakteri yang paling umum dikenal bertanggung jawab untuk bioremediasi logam dapat dilihat pada tabel II.3.

Tabel II.3 Beberapa Mikroorganisme Pembiosorpsi Logam

No	Jenis Mikrobia	Jenis Logam
1	<i>Citrobacter sp</i>	Timbal dan cadmium
2	<i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	Perak
3	<i>Bacillus cereus</i>	Tembaga, timbal, dan cadmium
4	<i>Bacillus subtilis</i>	Chromium
5	<i>Pseudomonas putida</i>	Tembaga, besi, dan seng
6	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Sranium
7	<i>Micrococcus luteus</i>	Stronsium
8	<i>Sacharomyces cereviceae</i>	Uranium
9	<i>Aspergillus niger</i>	Thorium

(Sumber: Atlas dan Bartha, 1993)

II.6.3 Bakteri *Bacillus cereus*



Gambar II.4 Bakteri *Bacillus cereus*

Menurut Buchanan dan Gibbons (1974) dalam Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, *Bacillus cereus* termasuk genera *Bacillus*, organisme bersel tunggal, berbentuk batang pendek biasanya dalam bentuk rantai panjang. Umumnya mempunyai ukuran lebar $1,0\ \mu\text{m}$ dan panjang $3\ \mu\text{m} - 5\ \mu\text{m}$, Gram positif, aerob, suhu pertumbuhan maksimum $37 - 48\ ^\circ\text{C}$ dan minimum $5-20\ ^\circ\text{C}$ dan pH pertumbuhan $5,5 - 8,5$. *B. cereus* bersifat kosmopolit, suhu pertumbuhan optimum $30\ ^\circ\text{C}$. *B. cereus* merupakan saprofit ringan yang tidak berbahaya yang lazim terdapat dalam tanah, air, udara, dan tumbuh-tumbuhan serta mampu membentuk endospora yang tahan panas (Salle, 1974).

Mikroorganisme termasuk bakteri mempunyai mekanisme resistensi terhadap logam berat. *Bacillus sp.* adalah salah satunya. *Bacillus sp.* adalah bakteri yang melimpah di alam, dapat diisolasi dari udara, tanah, air tawar atau asin, baik di lingkungan normal ataupun ekstrim, termasuk lingkungan yang tercemar logam berat. Generasi *Bacillus* memiliki beberapa manfaat diantaranya untuk produksi enzim, antibiotik, pelarut, insektisida alami pada tanaman. Sebaliknya, ada juga *Bacillus* yang bersifat patogen bagi manusia dan hewan yaitu *Bacillus anthracis*. Kemampuan *Bacillus* yang beragam salah satunya resisten terhadap logam berat dapat dikembangkan lebih lanjut untuk tujuan bioremediasi. (Arinda, 2012)

II.6.4 Bakteri *Pseudomonas putida*



Gambar II.5 Bakteri *Pseudomonas putida*

Menurut Buchanan dan Gibbons (1974) dalam Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, *Pseudomonas putida* termasuk genera *Pseudomonas*, organisme bersel tunggal, berbentuk batang lurus/melengkung, tetapi tidak melingkar. Diameter sel berukuran $0,5\ \mu\text{m} - 0,7\ \mu\text{m}$ dan panjang $1\ \mu\text{m} - 4\ \mu\text{m}$, gram negatif, obligate aerob, bersifat motil, pH pertumbuhan $5,5 - 8,5$. *Pseudomonas putida* memiliki suhu pertumbuhan optimum $25-30\ ^\circ\text{C}$, dan tidak tumbuh pada suhu $42\ ^\circ\text{C}$. (Holtz, 1994).

II.7 Faktor yang Mempengaruhi Bioremediasi Logam

Laju bioremediasi logam dipengaruhi oleh sifat-sifat fisika dan kimia limbah minyak bumi serta populasi bakteri yang terdapat di lingkungan tersebut. Kemampuan bakteri mengubah senyawa logam menjadi senyawa lain yang tidak toksik tergantung dari enzim yang diproduksi (Yudono dkk, 2011). Suthersan (1999) menyatakan bahwa agar bakteri dapat terus tumbuh dan berkembang dengan baik serta meningkat kemampuan degradasinya, maka ada beberapa faktor yang mempengaruhinya. Gordon (1994) menyebutkan ada tiga faktor yang mempengaruhi biodegradasi, yaitu mikroba, kondisi lingkungan, dan nutrisi.

II.7.1 Mikroba

Furlong, *et al.* (1998) menyatakan bahwa bakteri yang dapat memanfaatkan minyak bumi tersebar luas di lingkungan dan mulai membelah diri ketika berada pada kondisi yang sesuai. Proses pembelahan diri pada lingkungan alami ini memerlukan waktu. Untuk itu penambahan jumlah bakteri pada tumpahan minyak mempercepat proses degradasi dari minyak bumi dan tempat yang paling baik untuk menemukan mikroba pendegradasi minyak bumi adalah dari tumpahan minyak itu sendiri. Peristiwa penambahan mikroorganisme pada daerah tercemar disebut dengan bioaugmentasi. Selain itu kepadatan populasi mikroba perombak polutan yang sangat rendah diatasi dengan enrichment, yaitu merangsang pertumbuhan dan aktivitas mikroba setempat yang dapat merombak polutan, misalnya dengan penyuntikan nutrisi ke daerah yang tercemar. Berdasarkan penelitian Augustin (2005), konsentrasi mikroorganisme yang digunakan sebagai starter dalam mendegradasi logam adalah sekitar $10^6 - 10^8$ sel/ml.

II.7.2 Kondisi Lingkungan

Mikroba membutuhkan kondisi lingkungan tertentu untuk hidup, karena pertumbuhan mikroba dan aktivitas enzim dipengaruhi oleh faktor-faktor lingkungan yang akhirnya mempengaruhi laju degradasi. Beberapa diantaranya adalah :

1) Oksigen

Biodegradasi didominasi oleh proses oksidasi. Enzim-enzim bakteri akan mengkataliskan pemasukan oksigen ke dalam hidrokarbon sehingga molekul dapat dikonsumsi untuk metabolisme sel. Pemberian oksigen pada suatu proses bioremediasi dimaksudkan sebagai penambahan penerima elektron. Penambahan oksigen dapat dilakukan dengan penambahan agen pengembang (*bulking agent*) selain berfungsi sebagai fasilitas aerasi bagi mikroba juga dapat memperluas bidang kontak antara bahan pencemar dengan mikroba (Yudono dkk, 2009). Mikroorganisme membutuhkan oksigen baik dalam

bentuk oksigen bebas yang diperoleh dari udara maupun oksigen yang terlarut dalam air. Dalam biodegradasi minyak bumi, oksigen digunakan untuk reaksi oksidasi dan respirasi. Sebagian besar mikroorganisme pendegradasi minyak bumi tergolong dalam mikroorganisme aerob (Jordan dan Payne, 1980). Mikroorganisme aerob memiliki kadar minimal oksigen terlarut (DO) pada media tinggalnya agar dapat bertahan hidup dan berkembang biak. Kadar DO minimum bakteri aerob adalah 2 mgO₂/liter. (Agrotekno,2015).

2) pH

Sebagian besar biodegradasi oleh bakteri terjadi pada pH netral. Untuk mendukung pertumbuhan mikroba, pH tanah harus berada antara 6 - 8, dengan pH optimal 7. Nilai pH yang ekstrim, seperti pada beberapa jenis tanah, berpengaruh negatif terhadap kecepatan degradasi hidrokarbon oleh bakteri (Nugroho, 2006). Dibble dan Bartha (1979) mengatakan bahwa biodegradasi minyak akan meningkatkan pH dengan degradasi optimum di bawah sedikit kondisi basa. Kemampuan bakteri untuk mendegradasi hidrokarbon dipengaruhi oleh pH lingkungannya. Bakteri yang hidup di lingkungan hidrokarbon mempunyai kisaran pH yang sempit untuk bertahan hidup. Jika pH terlalu asam atau basa maka bakteri pendegradasi logam perlahan-lahan berkurang. Nilai pH tanah asam dapat dinaikkan dengan penambahan magnesium sulfat dan pH tanah basa dapat diurunkan dengan penambahan sulfur (Walsh, 1999).

3) Temperatur

Temperatur menjadi faktor yang penting dalam pertumbuhan mikroba karena pada temperature rendah, pergerakan molekul cenderung lambat dan molekul-molekul yang menyatu cenderung tidak ikut bereaksi. Peningkatan temperature akan meningkatkan kemungkinan terjadinya reaksi dan meningkatkan laju difusi. Laju reaksi enzimatik secara umum dapat meningkat setiap kenaikan 10°C temperature selama enzim tidak berubah sifatnya. Semakin tinggi reaksi enzimatik maka semakin cepat proses biodegradasinya. Aktivitas mikroba terutama bakteri yang penting

dalam biodegradasi logam terhambat pada temperature $>45^{\circ}\text{C}$. Antara $10 - 45^{\circ}\text{C}$ laju aktivitas mikroba biasanya meningkat menjadi dua kalinya setiap kenaikan 10°C (Atlas,1985).

4) Kelembaban

Air diperlukan oleh mikroba karena air merupakan penyusun terbesar sitoplasma sel. Selain itu air juga penting karena kebanyakan reaksi enzim terjadi pada fasa larutan. Air juga diperlukan untuk transport masuk dan keluar sel (Atlas dan Bartha,1985). Mikroba tanah memerlukan kelembaban yang cukup untuk dapat tumbuh. Secara umum tanah harus lembab, namun tidak basah. Kelembaban tanah ideal yang diperlukan adalah antara 20%-80%. Bila tanah 100% lembab berarti seluruh pori tanah terisi oleh air, sedangkan kelembaban 10% merupakan batas bawah dari kemampuan proses metabolisme mikroba. Secara berkala, kelembaban harus ditambahkan ke dalam tanah karena tanah akan menjadi kering karena evaporasi, yang meningkat selama operasi aerasi. Tingkat kelembaban yang disarankan oleh Departemen Konservasi Lingkungan, New York adalah 50-60%. Hal ini berarti tanah dalam keadaan basah namun tidak becek. Kelembaban dapat ditambahkan dengan mengaplikasikan *spray* (Nugroho, 2006).

5) Tekstur tanah

Tekstur tanah memengaruhi permeabilitas, kelembaban dan kepadatan dari tanah. Untuk meyakinkan bahwa penambahan oksigen, distribusi nutrisi, dan kelembaban tanah dapat berlangsung dalam rentang yang tepat maka tekstur tanah harus diperhatikan. Misalnya tanah lempung sangat sulit untuk diaerasi dan mengakibatkan rendahnya oksigen. Penambahan bahan bulking seperti jerami perlu dicampurkan ke dalam tanah selama konstruksi bioremediasi untuk menambah pori-pori atau rongga (EPA,1999)

II.7.3 Nutrisi

Mikroba sangat bergantung pada nutrisi untuk bertahan hidup. Mampu atau tidaknya mikroba bertahan hidup akan terlihat

dari kecukupan nutriennya. Gordon (1994) menjelaskan bahwa nutrien-nutrien merupakan pendukung untuk hidup, berkembang biak dan menghasilkan enzim-enzim untuk mendegradasi logam. Nutrien yang dibutuhkan oleh mikroba bervariasi menurut jenis mikrobanya, namun seluruh mikroba memerlukan nitrogen, fosfor dan karbon. Selain itu, potasium, mangan, kalsium, besi, tembaga, kobalt, dan seng merupakan beberapa mineral yang dibutuhkan oleh mikroba.

II.8 Penelitian-Penelitian Terdahulu

Tabel II.4 Penelitian-Penelitian Terdahulu

No	Penulis	Nama Paper/Vol/Tahun	Judul Paper	Hasil
1	Garbisu <i>et al.</i>	Applied and Environmental Soil Science / vol. 2014/ 2014	Heavy Metal Polluted Soils : Effect on Plants and Bioremediation Methods	Bakteri <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Pseudomonas Putida</i> , <i>Enterobacter Cloacae</i> dapat meremoval kromium yang terkandung pada tanah
2	Zainus Salimin	Prosiding Seminar Teknik Kimia “Kejuangan” Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan SDA Indonesia	Heavy Metal Biosorption Phenomena of Cr, Fe, Zn, Cu, Ni, and Mn on the Biomass of Mixed Bacteria	Dalam waktu 23 hari, campuran bakteri <i>Bacillus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Artherobacter</i> , dan <i>Aeromonas</i> dapat

				mengadsorpsi logam Cr, Fe, Zn, Cu, Ni dan Mn.
3	Tutut Arinda	Skripsi, Jurusan Biologi, Fakultas FMIPA, ITS / 2012	Bioremoval Kromium dan Tembaga oleh <i>Bacillus cereus</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> pada Limbah Sitetik dan Limbah Cair Industri Elektroplating	Bioremoval untuk logam Cr tertinggi dimiliki oleh <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dan konsorsium bakteri yaitu 82% pada konsentrasi 13,9 mg/L sedangkan untuk logam Cu tertinggi dimiliki oleh isolat <i>B. cereus</i> dan konsorsium bakteri yaitu 100,0% pada konsentrasi 2 mg/L.
4	Garbisu <i>et al.</i>	Journal of Mineral Processing and Environmental Protection / vol. 3/ 2003	Basic Concepts on Heavy Metal Soil Bioremediation	Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dan <i>Alcaligenes eutrophus</i> dapat menghilangkan kadar Fe

				dan Mn dalam tanah
5	Nurul Hidayati	Thesis, Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya/ 2014	Bioremediasi Logam Berat (Pb, Cu dan Zn) menggunakan Biosurfaktan dan Konsorsium Bakteri	Angka removal paling tinggi untuk logam Cu dan Zn dilakukan oleh biosurfaktan dari <i>Pseudomonas putida</i> . Sedangkan angka removal paling tinggi untuk Pb dilakukan oleh biosurfaktan <i>Acinetobacter sp.</i>

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

III.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam skala *batch* di Laboratorium Pengolahan Limbah Industri, Jurusan Teknik Kimia, FTI-ITS. Penelitian yang dilaksanakan meliputi : 1) Persiapan dan karakterisasi tanah tercemar logam, 2) Persiapan bakteri, 3) Proses Bioremediasi dan 4) Analisa konsentrasi logam Fe, Cu dan Zn. Bahan baku yaitu tanah limbah minyak bumi yang diambil dari Pertamina Petrochina, Soko Tuban, Jawa Timur. Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari sampai bulan Juni 2016.

III.2 Kondisi Operasi

- Proses yang dilakukan adalah *batch process*
- Tanah = 1600 gram
- Temperatur operasi = 25 - 30°C
- pH = 6,0 – 8,0
- Komposisi Campuran = 20 % tanah dan 80 % air
- Agitasi = 100 rpm
- Aerasi = Memenuhi DO (≥ 2 mg/L)
- Jenis bakteri = *B. cereus* dan *P. putida*
- Logam = Fe, Cu dan Zn.

III.3 Variabel Penelitian

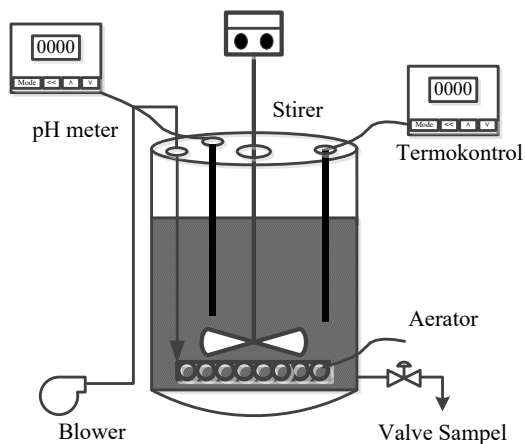
Variabel penelitian yang digunakan adalah sebagai berikut :

1. Konsentrasi mikroba yaitu 10% dan 15% v/v dengan populasi bakteri (10^5 - 10^8 sel/ml) pada tanah tercemar.
2. Bakteri yang digunakan
Perbandingan jumlah bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas putida* sebesar : (1: 0) ; (0 : 1) dan (1 : 1).

III.4 Alat dan Bahan

III.4.1 Alat

1. *Slurry bioreactor* (gambar III.1)
2. Saringan 10 mesh
3. DO meter
4. pH meter
5. *Autoclave*
6. Inkubator
7. *Vacuum Pump*
8. Oven
9. *Furnace*
10. *Magnetic stirrer*
11. *Erlenmeyer*
12. *Beaker glass*
13. Gelas Ukur
14. Hemasitometer
15. Mikroskop
16. Botol Winkler



Gambar III.1 Rangkaian alat *Slurry Bioreactor*

III.4.2 Bahan

1. Aquades
2. Bakteri *Bacillus cereus*
3. Bakteri *Pseudomonas putida*
4. Limbah tanah tercemar logam
5. Media Nutrient Broth
6. *Glass Microfibre Filter*
7. Urea
8. KH_2PO_4

III.5 Prosedur Penelitian

Pendekatan umum yang akan diambil dalam penelitian ini akan menjadi evaluasi intrinsik, kemampuan populasi mikroba dalam pengolahan tanah tercemar logam berat yang dilakukan secara aerobik. Penelitian yang akan dilakukan sesuai dengan rancangan penelitian secara eksperimental dengan melakukan percobaan di laboratorium untuk menghasilkan data optimasi bioremediasi dengan menggunakan bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas putida* secara *batch* dalam fase *slurry bioreactor*.

III.5.1 Preparasi Tanah Tercemar Minyak Bumi

1. Tanah yang tercemar logam diambil dari lokasi pengeboran dengan cara sampling dari beberapa titik.
2. Tanah tersebut kemudian dipisahkan dari daun, puing dan benda besar lainnya.
3. Tanah dipindahkan dari lokasi pencemaran ke tempat lain dan disaring beberapa kali dengan menggunakan saringan 10 mesh.
4. Tanah tercemar logam ini kemudian dicampur dengan air pada rasio 2 : 8 (w/w) untuk dilakukan karakterisasi kandungan awal logam berat menggunakan metode AAS (*Absorben Atomic Spectrofotometer*).

III.5.2 Persiapan Bakteri

III.5.2.1 Pengembangan Kultur

1. Pengembangan kultur dilakukan dengan melarutkan 4 gram *Nutrient Broth*, 6,25 gram agar batang, dan 1,5 gram glukosa ke dalam 500 mL aquades dan mendidihkan campuran hingga semua melarut.
2. Media NBA yang telah jadi kemudian disterilisasi menggunakan *autoclave* bersama dengan 2 tabung reaksi kosong yang ditutup dengan sumbat kapas. Sterilisasi dalam *autoclave* dilakukan pada suhu 121°C selama 15 menit.
3. Memasukkan larutan dalam tabung reaksi masing-masing 5 mL, kemudian menutup kembali mulut tabung reaksi dengan sumbat kapas, kemudian didinginkan dengan posisi miring.
4. Setelah media memadat, menginokulasikan bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas putida* masing-masing ke dalam tabung reaksi yang telah berisi media steril. Inokulasi dilakukan di dalam *incase*.
5. Menginkubasi biakan pada suhu 30 °C selama 24 jam.
6. Selanjutnya biakan disimpan pada suhu 4 °C di dalam freezer.

III.5.2.2 Peremajaan Bakteri

Peremajaan isolat bakteri dilakukan pada media cair (*Nutrient Broth* cair). Dalam Penelitian ini, *Nutrient Broth* cair (NB cair) yang digunakan sebanyak 2,1 L untuk variabel 10% konsentrasi bakteri dan 3,15 L untuk variabel 15% konsentrasi bakteri. Langkah-langkah dalam peremajaan bakteri adalah sebagai berikut :

1. Untuk membuat 1 L NB cair dilakukan dengan cara melarutkan 8 gram *Nutrient Broth* dan 3 gram glukosa ke dalam 1 liter aquades di atas pemanas (*Hot Plate*).
2. Media disterilisasi di dalam *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C, dan didiamkan hingga dingin.

3. Memasukkan media cair ke dalam 2 buah erlenmeyer masing-masing sebanyak 300 mL.
4. Menginokulasi bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas putida* dari media agar miring ke media yang baru dengan menggunakan kawat ose secara aseptik. Masing-masing bakteri diinokulasi sebanyak 3 tempel dari biakan induk.
5. Kedua media tersebut dikocok menggunakan *incubator shaker* selama 24 jam.
6. Menyediakan 2 buah botol steril masing-masing berukuran 1,5 L dan memasukkan media yang telah di-*shaker* ke dalam botol tersebut dan menambahkan sisa media yang tidak digunakan untuk inokulasi ke dalam botol tersebut.
7. Media tersebut di inkubasi pada suhu 30°C selama 1 hari.
8. Setiap 2 jam inkubasi, dilakukan perhitungan konsentrasi bakteri menggunakan metode *counting chamber* dengan alat hemasitometer dan mikroskop.

III.5.3 Persiapan Reaktor

Reaktor yang digunakan bervolume 7 liter dilengkapi dengan motor pengaduk untuk proses pencampuran dan aerator sebagai pensuplai oksigen untuk kebutuhan bakteri. Reaktor juga dilengkapi dengan valve untuk mengatur rate pengeluaran sampel untuk dianalisa.

Tahap penelitian bioreactor adalah sebagai berikut :

1. Memasukkan bahan ke dalam *slurry bioreactor*
2. Melakukan optimalisasi proses *slurry bioreactor* dengan parameter :
 - a. Temperatur (setiap hari)
 - b. Oksigen terlarut (setiap hari)
 - c. Populasi Bakteri (5 hari sekali)

III.5.4 Proses Bioremediasi

1. Sebanyak (10% dan 15%) (v/v) bakteri dimasukkan ke dalam bioreaktor berisi tanah tercemar yang telah

ditambah air dengan perbandingan 20% berat tanah dan 80% berat air. Range konsentrasi bakteri yang dimasukkan adalah $(4,5 - 9,55) \times 10^5$ sel/mL.

2. Kemudian dilakukan pengadukan 100 rpm pada suhu 25 - 30 °C
3. Melakukan aerasi sampai DO berada dalam range yang telah ditentukan yaitu ≥ 2 mg/l)
4. Menginjeksi nutrient dengan cara menambahkan urea hingga rasio C : N : P = 100 : 10 : 1 ke dalam bioreaktor.
5. Proses bioremediasi dilakukan selama 21 hari.
6. Setiap 5 hari dilakukan analisa logam dalam tanah hasil bioremediasi menggunakan teknologi AAS.



Gambar III.2 Proses Bioremediasi Logam dalam Bioreaktor

III.6 Besaran yang Diukur

Selama proses bioremediasi, pengamatan yang dilakukan antara lain sebagai berikut :

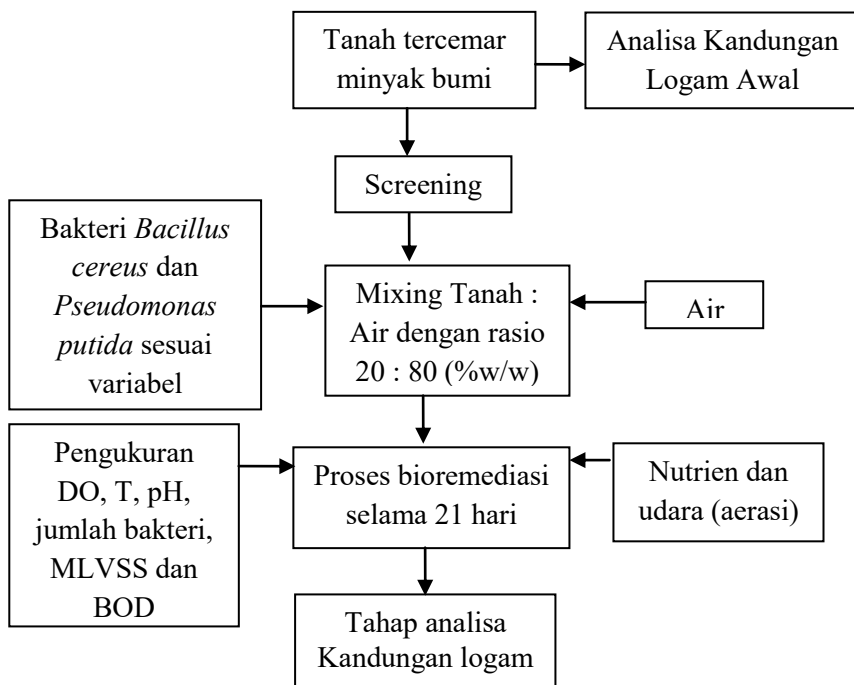
Tabel III.1 Pengamatan Rutin selama Proses Bioremediasi

No	Besaran yang diukur	Waktu Pengukuran
1	Temperatur	Sehari dua kali

2	pH	Sehari dua kali
3	DO (Dissolved Oxygen)	Sehari dua kali
4	Penghitungan jumlah bakteri	Lima hari sekali
5	MLVSS	Lima hari sekali
6	BOD	Lima hari sekali
7	Konsentrasi Logam (Cu, Zn, Fe)	Lima hari sekali

III.7 Prosedur Penelitian Bioremediasi

Prosedur proses bioremediasi di dalam bioreactor dapat dilihat pada blok diagram pada gambar III.3 berikut ini.



Gambar III.3 Diagram Prosedur Penelitian Bioremediasi

III.8 Prosedur Analisa

III.8.1 Analisa pH

Pengukuran pH dilakukan setiap hari dua kali dengan menggunakan pH meter type WTW pH7110 (gambar III.4). Penggunaan pH meter ialah dengan memasukkan sensor yang terdapat pada ujung batang ke dalam bioreaktor dan pembacaan pH dilakukan saat angka pada layar digital telah konstan (tidak berubah).



Gambar III.4 pH-meter Type WTW pH7110

III.8.2 Analisa DO (Dissolved Oxygen) dan Temperatur

Pengukuran suhu dan oksigen terlarut dalam bioreaktor dilakukan dengan menggunakan DO- meter (gambar III.5). Dengan cara memasukkan elektroda dari DO-meter ke dalam bioreaktor. Kadar oksigen yang terlarut dan suhu dalam *slurry* akan terbaca pada display DO meter.

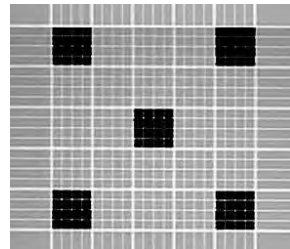
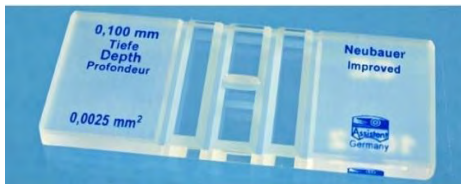


Gambar III.5 DO-meter Type Crison OXI 45 P

III.8.3 Analisa Jumlah Bakteri

Analisa jumlah bakteri menggunakan hemasitometer (gambar III.6) dengan prosedur sebagai berikut :

- Mengencerkan 1 ml sampel dengan aquades 9 ml hingga pengenceran 100 kali.
- Meneteskan 1 tetes sampel ke permukaan *counting chamber* hingga dapat menutupi seluruh permukaannya.
- Menutup hemasitometer dengan *deck glass* dan meletakkannya di bawah lensa mikroskop untuk dihitung jumlah selnya.
- Melakukan pengamatan di mikroskop dengan perbesaran total 400 kali.



Gambar III.6 Hemasitometer (*Counting Chamber*)

Cara menghitung jumlah sel :

Menghitung jumlah sel-sel pada area kotak A, B, C, D dan E. dari kelima titik tersebut dihitung rata-ratanya. Cara menghitung konsentrasi sel dihitung sebagai berikut :

Konsentrasi sel = jumlah sel rata-rata / volume kotak x faktor pengenceran.

dengan, volume kotak = luas kotak x kedalaman
 = $1/25 \text{ mm}^2 \times 0,1 \text{ mm}$
 = $1/250 \text{ mm}^3$
 = $1/250.000 \text{ mL}$

Contoh : Jika jumlah sel rata-rata 20 sel dengan faktor pengenceran 100 kali, maka konsentrasi sel pada sampel = $20 \times 250.000 \times 100 = 500.000.000 \text{ sel/ml}$.

III.8.4 Analisa Kandungan Logam (Fe, Cu dan Zn)

Analisa kandungan logam (Fe, Cu dan Zn) diukur dengan menggunakan alat AAS (*Atomic Absorbtion Spectrophotometer*) type *Brown Bag Series*. Prinsip kerja alat AAS yaitu absorpsi cahaya oleh atom. Atom-atom menyerap cahaya tersebut pada panjang gelombang tertentu, tergantung pada sifat unsurnya. Dengan absorpsi energi, berarti memperoleh lebih banyak energi, suatu atom pada keadaan dasar dinaikkan tingkat energinya ketika eksitasi. Sampel memerlukan perlakuan awal sebelum dianalisa menggunakan alat AAS yaitu :

1. Sampel tanah ditumbuk hingga 100 mesh
2. Lalu dilarutkan dengan teknik Teflon bom digesti sampai diperoleh larutan cuplikan yang siap untuk dianalisis
3. Larutan cuplikan kemudian di analisis dengan menggunakan alat AAS.

III.8.5 Analisa MLSS (Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 21st Edition, 2005: Fixed and Volatile Solids Ignited at 550 °C)

Analisa dilakukan pada sampel untuk setiap 5 hari pada masing-masing bioreaktor. Prosedur analisa MLVSS adalah sebagai berikut :

1. Memanaskan cawan porselin yang sudah dibersihkan beserta kertas saring ke dalam oven pada suhu 105 °C untuk mendapatkan berat konstan kemudian mendinginkannya selama 15 menit dalam desikator,.
2. Menimbang cawan dan kertas saring (B1)
3. Memasukkan 10 mL sampel diatas kertas saring dan disaring menggunakan vacuum pump.
4. Memasukkan cawan + sampel yang telah disaring ke dalam oven pada suhu 105 °C selama 1 jam, kemudian didinginkan selama 15 menit di desikator.
5. Menimbang cawan tersebut (B2)
6. Menghitung kadar abu dengan persamaan :

$$\text{MLSS (mg/l)} = \frac{(B2 - B1)}{\text{Volume sampel}} \times 1000$$

III.8.6 Analisa MLVSS (Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 21st Edition, 2005: Fixed and Volatile Solids Ignited at 550 °C)

1. Setelah analisa MLSS, memasukkan kembali cawan + abu ke dalam furnace pada suhu 550 °C selama 20 menit.
2. Memindahkannya ke dalam oven dengan suhu 105 °C selama 30 menit sebelum mendinginkan dalam desikator selama 15 menit.
3. Kemudian menimbanginya (B3)

$$\text{MLVSS (mg/l)} = \frac{(B2 - B3)}{\text{Volume sampel}} \times 1000$$

III.8.7 Analisa BOD₅ (*Biological Oxygen Demand*)

1. Menyiapkan 4 buah botol winkler yang sudah dicuci bersih.
2. Mengambil 10 mL sampel sesuai variable dan mesakkannya ke dalam botol winkler yang telah disiapkan.
3. Menambahkan aquades ke dalam botol hingga volume 300 mL dan 1 botol yang kosong diisi dengan aquades saja sebanyak 300 mL.
4. Mengukur DO (*Dissolve Oxygen*) pada masing-masing botol menggunakan DO-meter sebagai pengukuran DO⁰.
5. Menginkubasi keempat botol selama 5 hari.
6. Setelah inkubasi, mengukur kembali DO pada masing-masing botol dan dicatat sebagai DO⁵.

$$\text{BOD} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = (DO^0 - DO^5) - \left[\frac{300 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times (DO^5 - DO^0) \right]$$

Halaman ini sengaja dikosongkan

BAB IV HASIL PENGAMATAN DAN PEMBAHASAN

IV.1 Hasil Pengamatan

Hasil penelitian terdiri dari: data pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas putida*, data kandungan konsentrasi logam berat (Fe, Cu dan Zn) dalam sampel tanah tercemar minyak bumi serta kontrol suhu, pH dan DO selama penelitian.

IV.1.1 Pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas putida*

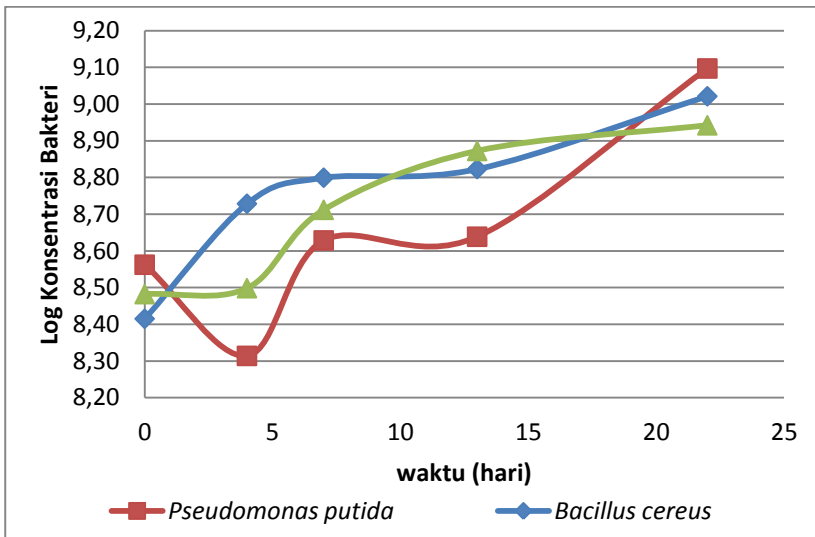
Pertumbuhan *B. cereus* dan *P. putida* dapat diukur dengan pertambahan jumlah sel per satuan waktu menggunakan metode *counting chamber*. Data populasi bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas putida* dalam penelitian ini digunakan untuk mengetahui pengaruh penurunan konsentrasi logam (Fe, Cu dan Zn) terhadap pertumbuhan bakteri. Data lengkap populasi bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas putida* selama penelitian disajikan pada Appendix. Hasil konsentrasi bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas putida* dapat dilihat pada Tabel IV.1

Tabel IV.1 Pertumbuhan Bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas putida* menggunakan Metode *Counting Chamber*

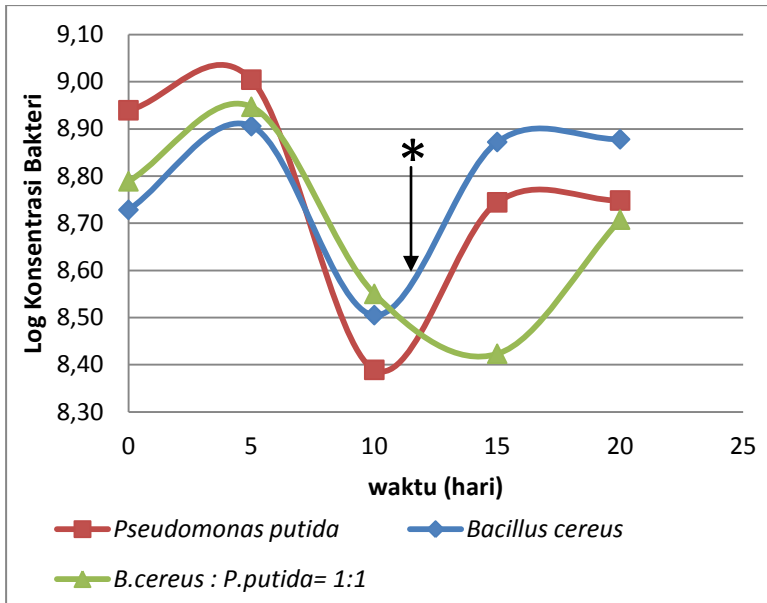
Hari Ke-	Konsentrasi Bakteri (sel/ml)		
	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Pseudomonas putida</i>	<i>B.cereus</i> : <i>P.putida</i> 1 : 1
Variabel 10% Konsentrasi Bakteri			
0	260.000.000	365.000.000	303.500.000
4	535.000.000	206.000.000	315.000.000
7	630.000.000	425.000.000	515.000.000
13	665.000.000	435.000.000	745.000.000
22	1.050.000.000	1.250.000.000	875.000.000

Variabel 15% Konsentrasi Bakteri			
0	535.000.000	870.000.000	615.000.000
5	805.000.000	1.010.000.000	885.000.000
10	320.000.000	245.000.000	355.000.000
15	745.000.000	555.000.000	265.000.000
20	755.000.000	560.000.000	510.000.000

Grafik pertumbuhan bakteri menggunakan metode *counting chamber* untuk ketiga variabel disajikan pada gambar IV.1 dan IV.2



Gambar IV.1 Grafik Pertumbuhan Bakteri pada 3 Variabel Konsentrasi Bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas putida* untuk Variabel 10% Bakteri



Gambar IV.2 Grafik Pertumbuhan Bakteri pada 3 Variabel Konsentrasi Bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas putida* untuk Variabel 15% Bakteri

* Penambahan nutrisi berupa urea dan KH_2PO_4

IV.1.2 Kandungan logam berat (Fe, Cu dan Zn) dalam tanah tercemar minyak bumi

Penelitian ini bertujuan untuk menurunkan kadar logam (Fe, Cu dan Zn) di dalam tanah tercemar minyak bumi dengan menggunakan bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas putida*. Variasi perbandingan bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas putida* yaitu (1:0), (0:1), dan (1:1). Sampel tanah yang digunakan telah mengandung logam awal sebanyak: 148,19 ppm (Fe) ; 4,205 ppm (Cu); dan 7,7394 ppm (Zn). Penurunan logam (Fe, Cu dan Zn) dapat dilihat pada tabel IV.2

Tabel IV.2 Penurunan konsentrasi logam Fe, Cu dan Zn (ppm)
pada 10% konsentrasi bakteri

Hari ke -		0	2	16	21
<i>B. cereus</i>	Fe (ppm)	148,19	84,234	37,2257	34,5697
	Cu (ppm)	4,205	2,468	0,679	0,5496
	Zn (ppm)	7,7394	7,011	6,84	6,5931
<i>B. cereus:</i> <i>P. putida</i> (1:1)	Fe (ppm)	148,19	70,6866	57,1147	35,052
	Cu (ppm)	4,205	2,006	0,99	0,5992
	Zn (ppm)	7,7394	6,942	8,4448	6,4724
<i>P. putida</i>	Fe (ppm)	148,19	80,94	60,2379	36,8589
	Cu (ppm)	4,205	3,984	0,696	0,5711
	Zn (ppm)	7,7394	7,46	7,417	6,3101

Tabel IV.3 Penurunan konsentrasi logam Fe, Cu dan Zn (ppm)
pada 15% konsentrasi bakteri

Hari ke -		0	5	10	15	20
<i>B. cereus</i>	Fe (ppm)	217,14	35,67	35,22	35,09	38,42
	Cu (ppm)	0,52	0,20	0,18	0,03	0,37
	Zn (ppm)	9,46	8,51	7,63	8,75	8,22
<i>B. cereus:</i> <i>P. putida</i> (1:1)	Fe (ppm)	217,14	34,80	34,2	34,69	37,40
	Cu (ppm)	0,52	0,27	0,27	0,23	0
	Zn (ppm)	9,46	8,64	7,91	7,74	6,44
<i>P. putida</i>	Fe (ppm)	217,14	34,88	35,03	36,83	37,67
	Cu (ppm)	0,52	0,38	0,34	0	0,17
	Zn (ppm)	9,46	8,36	7,90	8,20	7,47

IV.1.3 Kondisi pH, suhu dan DO

Hasil pengukuran pH, suhu dan DO disajikan pada tabel IV.4 dan IV.5.

Tabel IV.4 Data Pengamatan Suhu, pH, dan DO pada Variabel 10% Bakteri dalam Bioreaktor

Hari Ke-	<i>Bacillus cereus</i>			<i>B.cereus : P.putida</i> 1:1			<i>Pseudomonas putida</i>		
	pH	DO (mg O ₂ /L)	T (°C)	pH	DO (mg O ₂ /L)	T (°C)	pH	DO (mg O ₂ /L)	T (°C)
0	8,006	2,97	27,6	7,13	2,91	27,3	8,027	2,98	27,4
1	7,874	3,36	27,3	7,613	3,25	27,4	7,655	3,05	27,5
	7,84	3,67	27,7	7,585	3,6	27,8	7,586	3,57	27,8
2	7,788	4,04	28,5	7,579	4,31	28,5	7,625	4,29	28,4
	7,883	4,44	28,6	7,595	4,37	28,6	7,682	4,52	28,6
3	7,821	4,19	28,5	7,233	3,53	28,5	7,613	4,15	28,5
	7,81	4,09	29	7,44	3,97	29,3	7,593	4,12	29
4	7,767	4,51	28,6	7,733	4,32	28,8	7,642	4,65	28,6
	7,79	4,23	28,9	7,773	4,08	29,1	7,664	4,28	28,9
5	7,825	3,46	28,6	7,687	3,4	28,8	7,594	3,38	28,9
	7,833	4,74	28,8	7,709	4,55	28,9	7,535	4,39	29
6	7,876	3,15	28,6	7,697	3,2	28,8	7,783	3,23	28,8
	7,815	4,75	28,8	7,635	3,12	29,1	7,77	4,72	28,9
7	7,854	3,8	28,6	7,638	3,73	28,6	7,7	3,49	29
	7,806	4,43	28,9	7,66	4,37	29,3	7,664	4,41	28,9
8	7,796	4,57	29,1	7,654	4,78	29,6	7,63	4,5	28,9
	7,807	3,98	29,1	7,663	3,81	29,2	7,657	4,14	29,1
10	7,776	4,42	28	7,564	4,62	28,3	7,652	4,57	28,2
	-	-	-	-	-	-	-	-	-

11	7,738	5,48	28,1	7,55	3,6	28,4	7,627	5,48	28,3
	7,794	4,54	28,6	7,59	4,41	28,6	7,644	4,89	28,6
12	7,78	4,8	28,1	7,541	4,5	28,1	7,667	4,81	28
	7,795	4,78	28,1	7,555	4,68	28,2	7,691	5,08	28,1
13	7,757	4,64	27,7	7,536	4,55	27,7	7,647	4,6	27,7
	7,778	4,32	27,9	7,554	4,36	28,1	7,667	4,47	28,1
14	7,809	3,82	27,7	7,612	3,85	27,9	7,685	3,76	28
	7,778	4,8	27,8	7,564	4,95	28,2	7,669	5,14	28,1
15	7,706	4,35	27,6	7,477	4,33	27,5	7,627	4,64	27,4
	7,679	4,42	27,4	7,44	4,44	27,3	7,578	4,72	27,3
16	7,822	4,19	28,2	7,648	4,23	28,2	7,67	4,2	28,1
	7,842	4,07	28,5	7,728	4,09	28,4	7,686	4,36	28,4
17	7,802	3,55	27,9	7,674	3,55	28,1	7,697	3,92	28,1
	7,76	3,76	28	7,633	3,85	28	7,642	3,8	28,1
18	7,694	5,04	28,2	7,591	4,94	28,1	7,629	4,72	28
	7,763	4,96	28,4	7,66	4,8	28,5	7,692	5,03	28,4
19	7,748	4,46	28,1	7,675	4,22	28,2	7,704	4,44	28,1
	7,728	4,16	28,4	7,668	4,3	28,5	7,706	4,08	28,5
20	7,755	5,1	28,4	7,65	4,84	28,5	7,712	5,09	28,4
	7,784	5,29	28,3	7,676	5,22	28,3	7,74	5,24	28,2
21	7,748	5,54	28,1	7,657	5,63	28,1	7,723	5,69	28
	7,789	5,35	28,3	7,653	5,25	28,4	7,746	5,38	28,4

Tabel IV.5 Data Pengamatan Suhu, pH, dan DO pada
Variabel 15% Bakteri dalam Bioreaktor

Hari Ke-	<i>Bacillus cereus</i>			<i>B.cereus : P.putida</i> 1:1			<i>Pseudomonas putida</i>		
	pH	DO (mg O ₂ / L)	T (°C)	pH	DO (mg O ₂ / L)	T (°C)	pH	DO (mg O ₂ / L)	T (°C)
0	7,052	2,87	29,2	7,314	1,02	29,3	7,615	2,75	29,6
	7,701	2,81	29,7	7,557	1,3	29,5	7,67	5,6	29,7
1	7,812	3,51	28,8	7,854	5,77	28,8	7,789	6,12	28,7
	7,928	5,45	29,3	7,723	6,04	29,3	7,584	6,34	29,4
2	8,037	3,14	28,9	7,574	3,65	28,9	7,6	7,55	29,1
4	8,18	3,41	28,8	7,974	3,36	28,7	7,77	3,52	28,7
	8,126	4,01	29,3	7,967	4,02	29,2	7,872	3,88	29,1
5	8,148	7,25	28,4	7,95	9,35	28,4	7,72	7,99	28,1
	8,092	4,15	28,6	7,94	9,31	28,5	7,755	7,63	28,7
6	7,963	3,79	28,6	7,924	4,55	28,4	7,759	4,04	28,4
7	7,971	3,52	28,5	7,862	5,96	28,7	7,799	8,57	28,7
	7,966	4,81	29,2	7,857	2,87	29	7,824	7,11	28,9
8	7,972	6,24	28,5	7,874	4,29	28,7	7,786	5,43	28,6
	7,708	5	28,8	7,573	5,02	29	7,549	5,97	29,1
9	7,976	5,56	28,5	7,876	3,5	28,7	7,847	3,9	29
	7,944	5,64	28,7	7,857	6,22	28,7	7,817	6,46	28,5
10	7,975	4,03	28,1	7,913	4,2	28,1	7,882	6,16	28,1
	5,287	2,11	27	5,413	1,86	27,3	5,435	3,19	27,3
11	5,602	2,47	28,1	5,928	2,46	28,2	5,903	2,94	28
	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	6,875	3,57	28,1	7,354	2,76	28,2	7,887	2,9	28,2
	7,104	2,33	28	7,452	3,18	28,1	7,811	2,31	28
13	8,08	3,89	27,4	7,908	3,27	27,3	7,767	4,05	27,2

	8,053	2,89	27,2	7,946	2,06	27,2	7,832	2,4	27,1
14	8,363	2,09	27,7	7,974	2,65	27,7	7,808	2,75	27,6
	8,378	2,41	28,8	7,94	2,96	28,3	7,789	3,14	28,3
15	8,383	4,64	28	8,031	4,29	28	7,873	4,42	28
	8,369	4,28	28,2	8,018	4,14	28,4	7,847	4,16	28,4
16	8,533	5,79	28,2	8,129	6,17	28,3	7,962	7,43	28,2
	8,535	6,93	28,3	8,153	6,73	28,5	7,937	7,2	28,6
17	8,761	6,74	28,2	8,274	6,55	28,3	8,006	7,02	28,3
	8,864	5,91	28,5	8,303	5,46	28,5	8,008	5,34	28,5
18	8,767	6,79	28,6	8,112	8,27	28,6	7,95	8,37	28,7
	8,855	6,23	28,5	8,196	6,5	28,5	8,042	6,46	28,5
19	8,913	6,27	28,3	8,393	6,51	28,3	8,205	4,2	28,3
	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	8,943	2,17	28,6	8,376	2,61	28,4	8,205	2,97	28,3
	-	-	-	-	-	-	-	-	-

IV.2 Pembahasan

Penelitian ini menggunakan limbah tanah dari sisa eksplorasi minyak bumi. Sebelumnya, tanah ini telah dilakukan analisa konsentrasi *indigenous* bakteri dan diperoleh hasil sebesar 100 sel/ml. Oleh karena konsentrasi sel dalam tanah tersebut sangat kecil maka dapat diasumsikan bahwa *indigenous* bakteri dalam limbah tanah tersebut tidak ada sehingga tidak diperlukan adanya sterilisasi tanah sebelum melakukan proses bioremediasi.

IV.2.1 Pola Pertumbuhan Bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas putida*

Dalam penelitian ini, aktivitas bakteri sangat mempengaruhi keberhasilan dalam penghilangan logam berat pada tanah tercemar. Oleh karena itu, beberapa faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri haruslah diperhatikan.

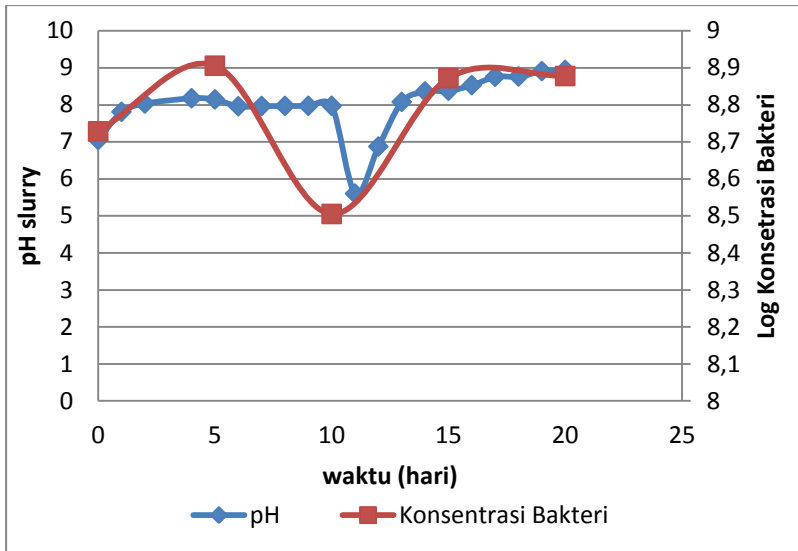
Beberapa faktor tersebut antara lain: temperatur, pH, oksigen, kandungan air dan sumber makanan.

Gambar IV.1 dan IV.2 menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas putida* selama proses bioremediasi untuk variabel 10% konsentrasi bakteri dari hari pertama hingga hari ke-20 terus mengalami peningkatan. Sedangkan untuk variabel 15% konsentrasi bakteri, grafik mengalami penurunan pada titik tertentu. Hal ini dikarenakan konsentrasi bakteri sudah melebihi batas maksimal yang seharusnya pada proses bioremediasi. Apabila konsentrasi bakteri lebih dari 10^8 , bakteri tersebut akan saling beradu dan berebut makanan akibatnya bakteri tersebut mati dan terjadilah penurunan pertumbuhan (Naryaningsih,2005). Saat terjadi penurunan, pada percobaan ini ditambahkan nutrisi yang cukup berupa urea (NH_2CO) dan KH_2PO_4 sehingga aktivitas bakteri dalam melakukan perkembangbiakan menjadi stabil kembali. Secara garis besar, pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas putida* hingga 20 hari telah melalui 3 fase pertumbuhan yaitu adaptasi, eksponensial, dan stasioner.

Salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri adalah temperatur. Temperatur berpengaruh terhadap proses metabolisme dan laju pertumbuhan bakteri. Secara umum, peningkatan suhu berpengaruh terhadap aktivitas enzim. Diluar temperatur optimum, pertumbuhan bakteri menjadi lambat atau tidak ada pertumbuhan (Lay,1994). Pada suhu yang rendah, kelarutan air menurun dan viskositas minyak meningkat sehingga bakteri kesulitan mengkonsumsi makanannya yang berupa minyak hidrokarbon. Sedangkan, pada suhu tinggi, metabolisme bakteri meningkat, biasanya kisaran $30-40^\circ\text{C}$ dalam lingkungan tanah (Leahy & Colwell, 1990), $20^\circ\text{C} - 30^\circ\text{C}$ dalam beberapa lingkungan air tawar dan $15^\circ\text{C} - 20^\circ\text{C}$ dalam lingkungan laut (Bossert dkk, 1984). Berdasarkan analisa rutin yang dilakukan setiap hari pada penelitian ini, range suhu lingkungan bakteri dalam ketiga bioreaktor adalah $27^\circ\text{C} - 29,7^\circ\text{C}$ dengan suhu rata-rata $28,4^\circ\text{C}$. Hal ini sesuai dengan lingkungan bakteri dalam

bioreaktor yakni tanah yang telah dicampur dengan air tawar yang memiliki suhu optimum yaitu 20-30°C, sehingga bakteri mampu tumbuh dengan baik diikuti dengan optimalnya faktor-faktor pertumbuhan yang lain.

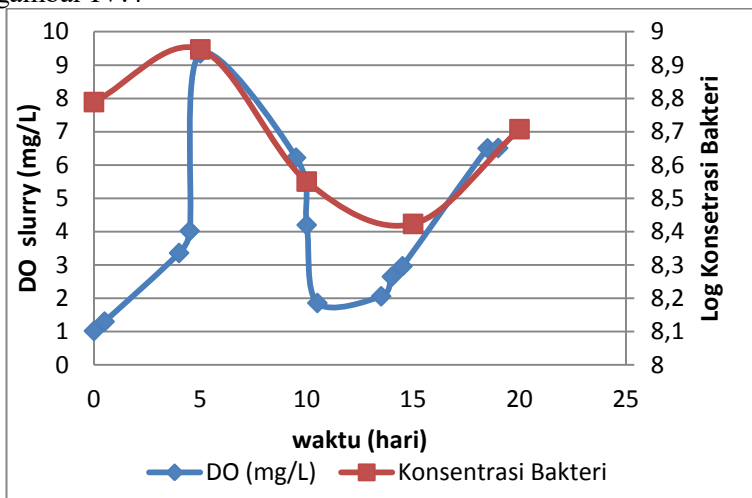
Pada gambar IV.1 dapat dilihat bahwa pertumbuhan bakteri pada variabel 10% selalu mengalami peningkatan dan belum terjadi fase kematian hingga waktu 21 hari. Range pH dan DO untuk variabel 10% bakteri berada pada range pH 7,1–8,0 dan DO 3,1-5,7 mg O₂/L. Sedangkan untuk variabel 15% (gambar IV.2), pertumbuhan bakteri tidak selalu meningkat. Pada saat tertentu, terjadi penurunan yang cukup signifikan, yaitu pada hari ke 10 menuju ke 15. Hal tersebut disebabkan oleh beberapa faktor. Salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri adalah pH dan DO (*Dissolved Oxygen*). Sebagian besar bakteri hidup pada pH netral termasuk bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas putida*. Nilai pH yang ekstrim, seperti pada beberapa jenis tanah, berpengaruh negatif terhadap kecepatan removal logam oleh bakteri (Nugroho, 2006). Kemampuan bakteri untuk removal logam dipengaruhi oleh pH lingkungannya. Bakteri yang hidup di lingkungan hidrokarbon mempunyai kisaran pH yang sempit untuk bertahan hidup. Jika pH terlalu asam atau basa maka bakteri perlahan-lahan berkurang (Walsh, 1999). pH pertumbuhan untuk bakteri *B.cereus* dan *P.putida* berturut-turut adalah 5,5-8,5 dan 7-8,5 Berdasarkan analisa rutin yang dilakukan setiap hari pada penelitian ini, pH rata-rata slurry di dalam ketiga bioreaktor adalah 7,7 dengan maksimal pH 8,9 pada variabel bakteri *B.cereus* pada hari ke 20 (hari terakhir bioremediasi). Pada hari ke 16 hingga ke 20, pH terus meningkat hingga melewati batas pH pertumbuhan *B.cereus*, oleh karena itu terjadi fase stasioner, yaitu fase dimana pertumbuhan sel-sel baru seimbang dengan kematian sel sehingga grafik pertumbuhannya hampir konstan. Grafik perbandingan pH dengan konsentrasi bakteri dapat dilihat pada gambar IV.3.



Gambar IV.3 Grafik Perbandingan pH dengan Pertumbuhan Bakteri pada Variabel Bakteri *Bacillus cereus* dengan Variabel 15% Konsentrasi Bakteri dalam Bioreaktor

Faktor ketiga yang juga berpengaruh besar terhadap laju pertumbuhan bakteri ialah keberadaan oksigen. Pemberian oksigen pada suatu proses bioremediasi dimaksudkan sebagai penambahan penerima elektron. Mikroorganisme membutuhkan oksigen baik dalam bentuk oksigen bebas yang diperoleh dari udara maupun oksigen yang terlarut dalam air. Dalam proses bioremediasi, oksigen digunakan untuk reaksi oksidasi dan respirasi. Sebagian besar mikroorganisme removal logam tergolong dalam mikroorganisme aerob, termasuk pula bakteri *B.cereus* dan *P.putida*. (Jordan dan Payne, 1980). Berdasarkan analisa rutin yang dilakukan setiap hari pada penelitian ini menggunakan DO-meter, DO (*Dissolved Oxygen*) mengalami perubahan secara fluktuatif setiap harinya. DO rata-rata slurry di dalam ketiga bioreaktor adalah 4,48 mg O₂/L dengan maksimal

DO sebesar 7,99. Pada hari ke-10 hingga ke-15 untuk variabel campuran bakteri 1:1 pada konsentrasi bakteri 15%, DO terus mengalami perubahan pada range yang rendah yaitu 1,86 hingga 3,27 mg O₂/L, oleh karena itu terjadi fase *Death*, yaitu fase dimana kematian bakteri rata-rata melebihi produksi sel-sel baru, sehingga grafik pertumbuhan mengalami penurunan. Kurangnya oksigen menyebabkan proses oksidasi dan respirasi bakteri menjadi terganggu sehingga menimbulkan kematian. Grafik perbandingan DO dengan konsentrasi bakteri dapat dilihat pada gambar IV.4

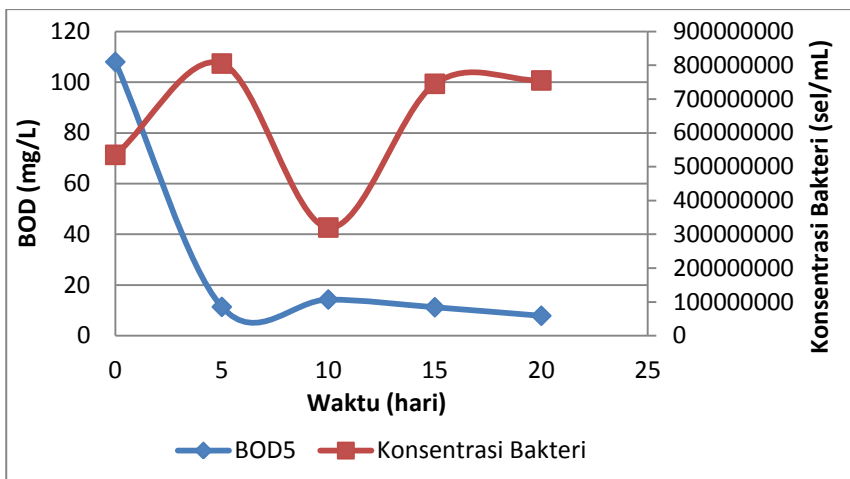


Gambar IV.4 Grafik Perbandingan DO dengan Pertumbuhan Bakteri pada Variabel Bakteri Campuran 1:1 dengan Variabel 15% Konsentrasi Bakteri dalam Bioreaktor

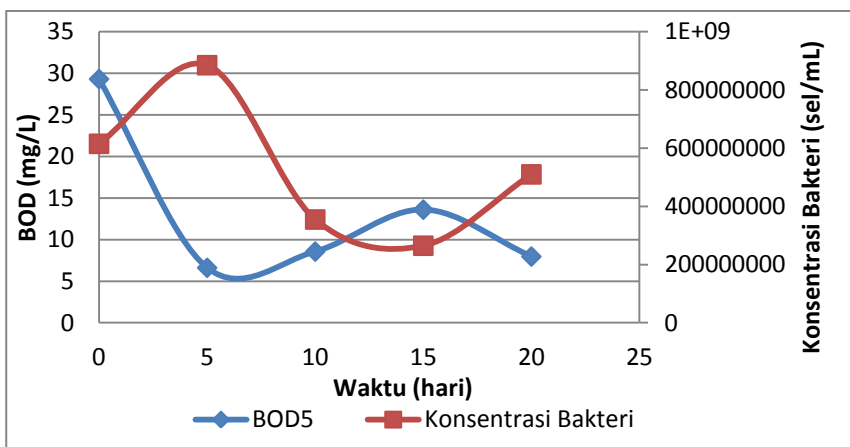
Selain suhu, pH, dan oksigen, faktor lain yang sangat dibutuhkan oleh bakteri adalah sumber makanan. Karbon yang tersedia pada hidrokarbon minyak bumi yang banyak terdapat dalam tanah tersebut dimanfaatkan oleh bakteri sebagai sumber energi bagi pertumbuhan sel. Selain karbon untuk pertumbuhannya, bakteri juga memerlukan unsur lain yaitu, nitrogen, fosfor, belerang, kalium, magnesium dan besi. Dari

deretan unsur tersebut, nitrogen dan fosfor merupakan unsur esensial untuk mendukung pertumbuhan bakteri (Vidali, 2001). Alexander dkk, (1982), menunjukkan bahwa rasio C:N:P dari 100:10:1 cukup untuk menjamin pertumbuhan optimal mikroorganisme. Konsentrasi nutrisi harus dipertahankan pada tingkat yang cukup tinggi untuk mendukung proses bioremediasi yang optimal. Dengan demikian nutrisi terutama nitrogen dan fosfor adalah bahan-bahan sangat penting untuk keberhasilan bioremediasi logam (Das dan Chandra, 2011). Dalam penelitian yang telah dilakukan, nutrisi yang ditambahkan untuk memacu pertumbuhan bakteri adalah urea (NH_2CO) sebagai sumber unsur nitrogen dan KH_2PO_4 sebagai sumber fosfor. Penambahan ini dilakukan setiap kali pertumbuhan bakteri mengalami penurunan. Untuk mengetahui jumlah nutrisi yang cukup yang harus ditambahkan dilakukan perbandingan terhadap BOD sebagai pengganti unsur C sesuai rasio C:N:P = 100:10:1 (Alexander, 1982). Dengan penambahan nutrisi yang cukup, pertumbuhan bakteri kembali meningkat, seperti yang terjadi pada pertumbuhan bakteri untuk variabel 15%. Dari gambar IV.2 dapat dilihat bahwa pada hari ke-5 hingga ke-10 terjadi penurunan konsentrasi sel dalam bioreaktor. Setelah penambahan nutrisi pada hari ke-10 grafik mengalami peningkatan hingga kenaikan pertumbuhan mencapai 11% per hari. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian nutrisi berefek besar pada pertumbuhan bakteri.

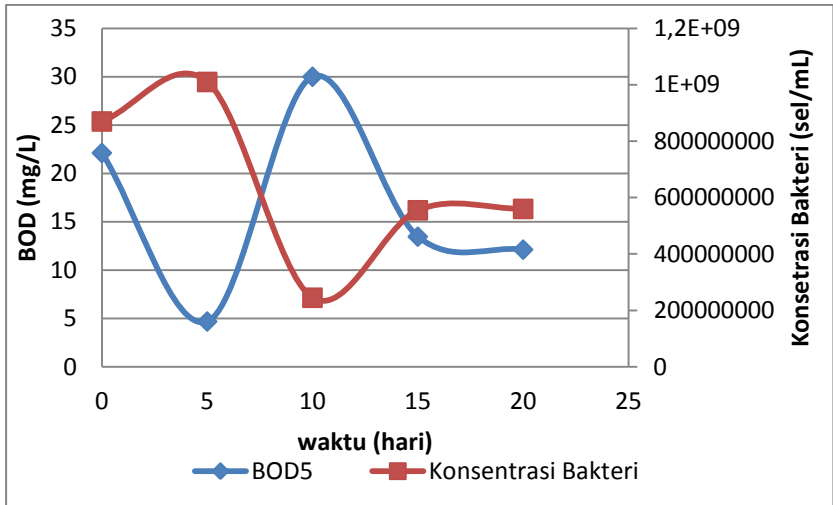
Apabila pertumbuhan bakteri dihubungkan dengan penurunan BOD maka hasil yang ditunjukkan seperti pada gambar IV.5, IV.6 dan IV.7 berikut ini.



Gambar IV.5 Grafik Perbandingan BOD dengan Pertumbuhan Bakteri terhadap Waktu pada Bakteri *B. cereus* dengan Variabel 15% Konsentrasi Bakteri dalam Bioreaktor



Gambar IV.6 Grafik Perbandingan BOD dengan Pertumbuhan Bakteri terhadap Waktu pada Bakteri *B. cereus* : *P. putida* = 1:1 dengan Variabel 15% Konsentrasi Bakteri dalam Bioreaktor



Gambar IV.7 Grafik Perbandingan BOD dengan Pertumbuhan Bakteri terhadap Waktu pada Campuran Bakteri *P. putida* dengan Variabel 15% Konsentrasi Bakteri dalam Bioreaktor

BOD (*Biological Oxygen Demand*) merupakan jumlah oksigen yang diperlukan oleh mikroorganisme dalam hal ini bakteri di dalam air limbah untuk mengoksidasi zat-zat organik yang ada dalam limbah tersebut pada periode tertentu biasanya selama 5 hari (Moertinah,2010). Sehingga, apabila BOD tinggi maka zat organik (minyak bumi) yang ada dalam limbah tersebut juga tinggi. Oleh sebab itu, kurva penurunan minyak bumi (substrat) disubstitusi oleh kurva penurunan BOD sebagai perbandingan dengan pertumbuhan bakteri selama proses bioremediasi. Dari grafik IV.5, IV.6 dan IV.7 dapat disimpulkan bahwa pertumbuhan bakteri berbanding terbalik dengan jumlah BOD. Hal ini berarti ketika pertumbuhan bakteri meningkat maka zat organik mengalami penurunan dan sebaliknya, ketika jumlah sel bakteri menurun maka jumlah zat organik semakin banyak karena adanya tambahan dari sel bakteri yang telah mati.

Faktor terakhir yang juga berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri adalah kadar air dalam lingkungannya. Dalam proses bioremediasi logam, kandungan air sangat penting untuk hidup, tumbuh dan aktivitas metabolisme bakteri. Tanpa air bakteri tidak dapat hidup dalam limbah, karena bakteri hidup aktif pada interfase antara minyak dan air. Air yang ada dalam minyak mengandung substansi organik yang menambah ketebalan minyak dan air serta membuatnya bercampur lebih baik sehingga menstimulasi aktivitas mikroba. Air dibutuhkan untuk aktivitas metabolisme dan pertumbuhan bakteri serta untuk melarutkan nutrisi, karena untuk dapat memasuki bakteri, nutrisi harus dalam bentuk larutan (Pelczar & Chan, 2005). Oleh karena itu, dalam penelitian ini digunakan campuran air dan tanah dengan rasio 8:2 agar bakteri mampu tumbuh dengan baik di lingkungan tanah tercemar.

IV.2.2 Kemampuan bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas putida* dalam menyerap logam (Fe Cu dan Zn) pada 10 % konsentrasi bakteri

Ada beberapa peraturan yang dapat dijadikan acuan mengenai standar logam (Fe, Cu dan Zn) dalam tanah. Berdasarkan UU No 101 tahun 2014, standar baku mutu limbah tanah adalah: 50 ppm (Fe), 2 ppm (Cu) dan 10 ppm (Zn). Dengan demikian, isolat bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas putida* berpotensi untuk diterapkan pada instalasi pengolahan tanah tercemar minyak bumi yang mengandung logam (Fe, Cu dan Zn) melebihi standar baku.

Mikroba telah lama diketahui dapat menyerap logam-logam berat dari lingkungan eksternalnya secara efisien (Horsfall *et.al.*, 2006; Chergui *et al.*, 2007). Bakteri genus *Pseudomonas* banyak digunakan sebagai biomaterial bioabsorben karena memiliki kemampuan menyerap berbagai logam seperti chromium (VI), Cu, Cd, Pb Zn, dengan pH proses mendekati netral (6-8). (Vijayaraghavan *et al.*, 2008).

Masing-masing isolate bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas putida* memiliki resistensi yang berbeda-beda terhadap logam berat yang diujikan. Salah satu mekanisme resistensi terhadap logam berat yang dimiliki genera *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas putida* adalah biosorpsi. Kemampuan biosorpsi bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas putida* karena adanya eksopolisakarida berupa alginat yang mengandung gugus karboksil sebagai tempat pengikatan logam berat (Saude *et al.*, 2002; Papageorgiou *et al.*, 2006)

Hampir semua mekanisme resistensi bakteri dikode di dalam plasmid dan transposon. Plasmid merupakan molekul DNA di luar kromosom yang membawa beberapa gen. Sedangkan transposon adalah fragmen DNA (gen) yang mampu melepaskan diri berpindah pada bagian lain genom suatu organisme dan hal itu memungkinkan transfer gen atau mutasi spontan yang menyebabkan bakteri resisten terhadap logam.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri *B.cereus* dan *P.putida* mampu menyerap logam berat (Fe, Cu dan Zn) dalam tanah tercemar minyak bumi sehingga menurunkan konsentrasi logam (Fe, Cu dan Zn) di dalam semua media perlakuan.

IV.2.2.1 Profil Penurunan Logam (Fe, Cu dan Zn)

1. Penurunan Logam Fe

Besi (Fe) merupakan logam yang dibutuhkan oleh organisme untuk metabolismenya. Namun dalam konsentrasi tinggi besi dapat membahayakan organisme di lingkungan. Beberapa bakteri mampu resisten terhadap besi (Fe) termasuk bakteri *B.cereus* dan *P.putida*. (Kraepiel, 1994)

Salah satu mekanisme penting resistensi pada bakteri terhadap logam adalah adanya protein RND (*Resistance, Nodulation, Cell Division*) yang mengatur transportasi logam melalui membrane sel. Pada *B.cereus* dan *P.putida*, pengambilan Fe diatur melalui produksi siderofor. Siderofor adalah senyawa pengompleks Fe^{3+} yang dihasilkan oleh beberapa jenis mikroba untuk mengikat unsur besi di lingkungan. Kelompok utama dari

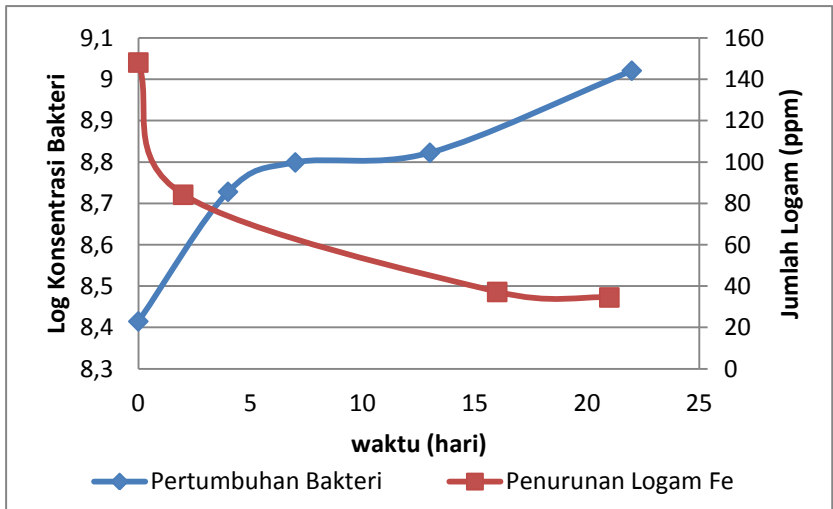
sederofor adalah asam hidroksamat, senyawa yang mampu mengikat ion logam. (Pamungkas, Aiditya, 2015).

Tabel IV.6 *Rate Biosorpsi logam Fe hingga hari ke 21*

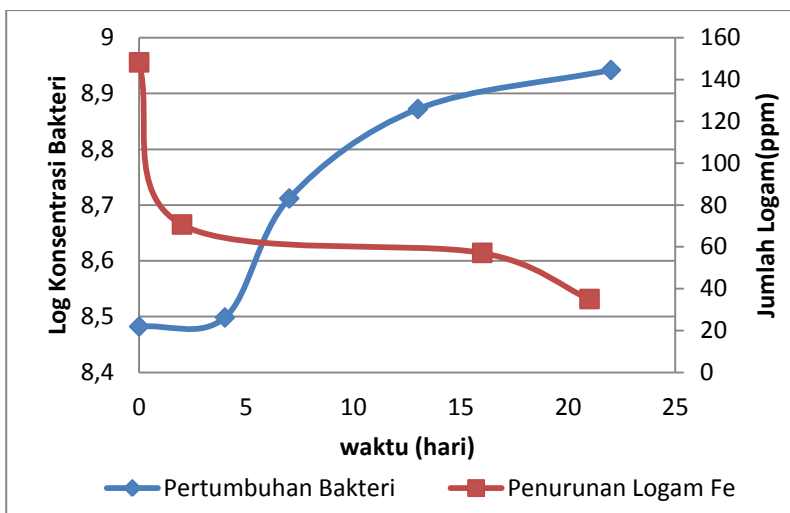
Bakteri	Waktu (hari)	Logam Fe sisa (ppm)	Rate Biosorpsi Logam Fe (ppm)
<i>Bacillus cereus</i>	0	148,19	-
	2	84,234	31,98
	16	37,2257	3,36
	21	34,5697	0,53
<i>B. cereus:</i> <i>P. putida</i> (1:1)	0	148,19	-
	2	70,69	38,75
	16	57,115	0,97
	21	35,052	4,41
<i>Pseudomonas putida</i>	0	148,19	-
	2	80,94	33,63
	16	60,2379	1,48
	21	36,859	4,68

Dari tabel IV.6 dapat dilihat bahwa *rate* biosorpsi logam Fe terbesar yaitu dari hari ke 0 - 2. Hal ini berlaku di semua perlakuan, baik dengan *B. cereus*, *P. putida* dan juga campuran keduanya. Ini menunjukkan bahwa kemampuan bakteri dalam biosorpsi logam Fe dalam sampel masih tinggi, dimana kapasitas pusat aktif dinding sel biomassa yang masih banyak, sehingga kemampuan biosorben dalam meng adsorpsi Fe juga akan meningkat. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya ,(Zainus Salimin, 2016), yang membuktikan bahwa waktu optimum bakteri dalam menyerap logam Fe yaitu pada rentang waktu 0 - 146 jam (6 hari).

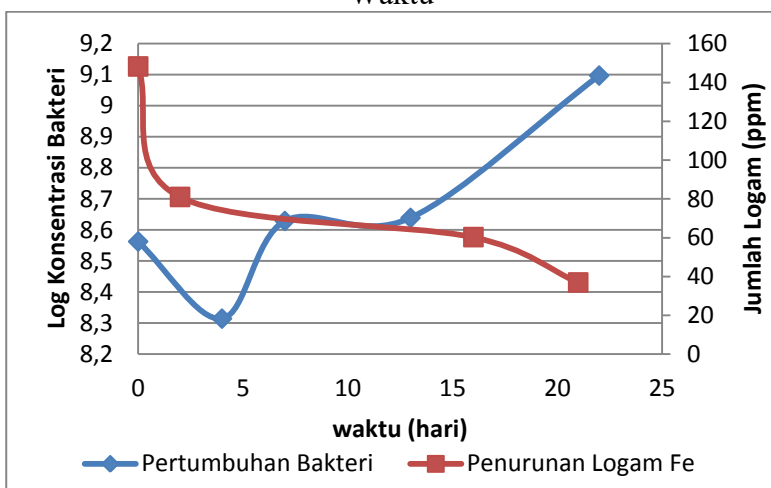
Penurunan logam Fe akan dipengaruhi oleh pertumbuhan bakteri . Hubungan antara keduanya akan disajikan pada Gambar IV.8, IV.9 dan IV.10



Gambar IV.8. Grafik Biosorpsi Logam Fe dan Pertumbuhan Bakteri *B.cereus* terhadap Waktu



Gambar IV.9. Grafik Biosorpsi Logam Fe dan Pertumbuhan Bakteri *B.cereus* dan *P.putida* (1:1) terhadap Waktu



Gambar IV.10. Grafik Biosorpsi Logam Fe dan Pertumbuhan Bakteri *P.putida* terhadap Waktu

Gambar IV.8, IV.9, IV.10, menunjukkan profil penurunan logam Fe dengan perlakuan bakteri *B.cereus*, *P.putida* dan campuran keduanya. Terlihat bahwa pertumbuhan bakteri pada hari ke- 0 – 21, diikuti dengan penurunan kandungan logam Fe pada sampel. Mekanisme ini terjadi secara simultan sejalan dengan konsumsi ion logam untuk pertumbuhan mikroorganisme (Suhendrayatna, 2001). Semakin meningkatnya waktu kontak pada reaktor, konsentrasi bakteri mengalami kenaikan yang tinggi. Tetapi penurunan logam Fe tidak menunjukkan perbedaan yang jauh. Hal ini mungkin dikarenakan kemampuan dalam biosorpsi logam Fe semakin menurun, karena populasi bakteri dalam sampel terlalu tinggi sehingga terjadi kompetisi untuk memperoleh nutrisi yang ada sehingga proses biosorpsinya rendah.

Jumlah populasi bakteri yang meningkat, dapat menimbulkan kompetisi antar bakteri. Bentuk kompetisi ini dapat berupa kompetisi dalam merebut ruang air dan unsure hara (Nainggolan, 2008). Akibat kompetisi tersebut, kerjasama antar bakteri menjadi menurun (Miwada, 2006). Charlena (2010) menyatakan adanya peningkatan jumlah sel bakteri dikarenakan adanya bakteri yang dapat hidup namun tidak secara efektif menggunakan hidrokarbon sebagai sumber makanannya.

2. Penurunan Logam Cu

Proses biosorpsi logam Cu pada bakteri *B.cereus* dan *P.putida* bisa berjalan karena bakteri tersebut mempunyai sifat resistensi terhadap logam Cu. Resistensi mikroorganisme terhadap logam Cu dikarenakan bakteri memiliki gen resisten Cu, *copoperon*. (Hidayati, Nurul, 2014)

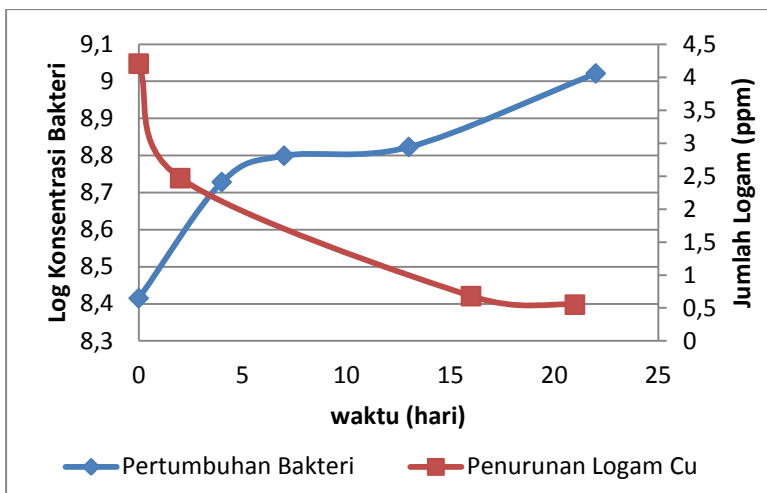
Penggunaan kemampuan metabolik mikroba untuk *removal* polutan lingkungan memberikan sebuah alternatif yang aman dan ekonomis dibandingkan dengan fisikakimia lainnya (Carpi, 2011). .

Tabel IV.7. *Rate Biosorpsi logam Cu hingga hari ke 21*

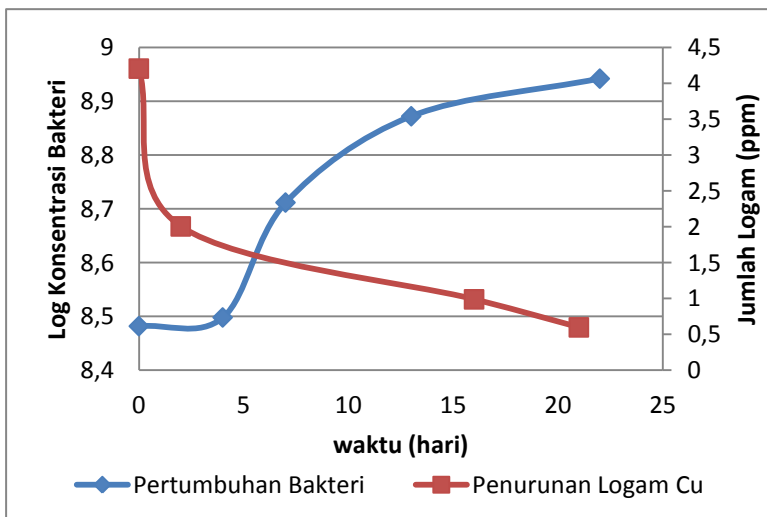
Bakteri	Waktu (hari)	Konsentrasi logam Cu (ppm)	Rate biosorpsi (ppm/hari)
<i>Bacillus cereus</i>	0	4,205	-
	2	2,468	0,87
	16	0,679	0,13
	21	0,5496	0,03
<i>B. cereus:</i> <i>P. putida</i> (1:1)	0	4,205	
	2	2,006	1,1
	16	0,99	0,07
	21	0,5992	0,08
<i>Pseudomonas putida</i>	0	4,205	
	2	3,984	0,11
	16	0,696	0,23
	21	0,5711	0,02

Dari tabel IV.16 dapat dilihat bahwa *rate* biosorpsi logam Cu terbesar yaitu dari hari ke 0 – 2 kecuali pada perlakuan *P.putida*. Tetapi jika dibandingkan dengan penurunan logam Fe, *rate* biosorpsi logam Cu menunjukkan kecenderungan konstan hingga hari ke-21. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya ,(Zainus Salimin, 2016), yang membuktikan bahwa penurunan logam Cu cenderung konstan selama 560 jam (23 hari) perlakuan.

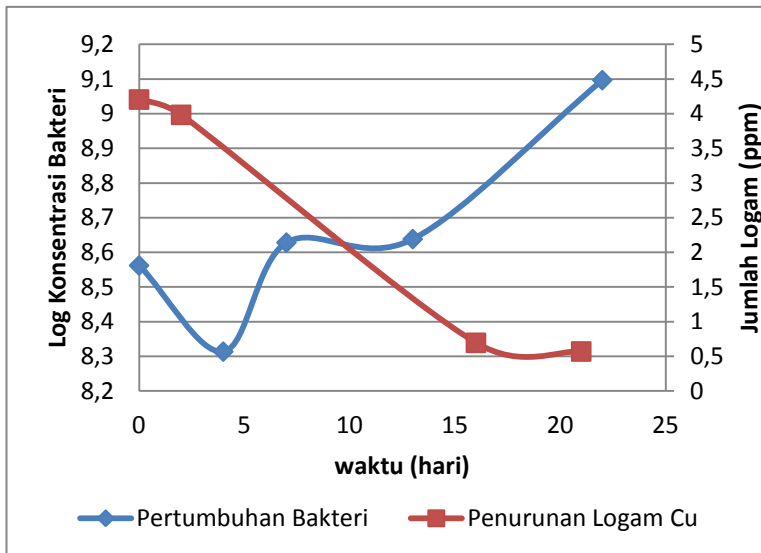
Penurunan logam Cu akan dipengaruhi oleh pertumbuhan bakteri . Hubungan antara keduanya akan disajikan pada Gambar IV.11, IV.12 dan IV.13



Gambar IV.11. Grafik Biosorpsi Logam Cu dan Pertumbuhan Bakteri *B.cereus* terhadap Waktu



Gambar IV.12 Grafik Biosorpsi Logam Cu dan Pertumbuhan Bakteri Campuran *B.cereus* dan *P.putida* (1:1) terhadap Waktu



Gambar IV.13. Grafik Biosorpsi Logam Cu dan Pertumbuhan Bakteri *P.putida* terhadap Waktu

Gambar IV.11, IV.12, IV.13, menunjukkan profil penurunan logam Cu dengan perlakuan bakteri *B.cereus*, *P.putida* dan campuran keduanya. Terlihat bahwa pertumbuhan bakteri pada hari ke- 0 – 21, diikuti dengan penurunan kandungan logam Cu pada sampel. Semakin meningkatnya waktu kontak pada reaktor, konsentrasi bakteri mengalami kenaikan yang tinggi. Tetapi penurunan logam Cu tidak menunjukkan perbedaan yang jauh. Hal ini sama dengan biosorpsi logam Fe, dikarenakan kemampuan dalam biosorpsi logam Cu semakin menurun, karena populasi bakteri dalam sampel terlalu tinggi sehingga terjadi kompetisi untuk memperoleh nutrisi yang ada sehingga proses biosorpsinya rendah.

3. Penurunan Logam Zn

Logam Zn termasuk sebagai mineral mikronutrien, artinya logam ini dibutuhkan sebagai nutrient yang *essensial* oleh organism dalam jumlah relatif sedikit. Kadar Zn yang tinggi dapat bersifat racun. (Orginawati, 2002). Menurut Tebo (1995) bahwa proses biosorpsi terjadi sebagai konsekuensi dari interaksi antara situs yang bermuatan negatif pada permukaan dinding sel mikroorganisme dan komponen ekspolimer lainnya dengan ion yang bermuatan positif atau melalui reaksi antara agen pengompleks ekstraseluler dengan ion logam.

Tabel IV.8. *Rate* Biosorpsi logam Zn hingga hari ke 21

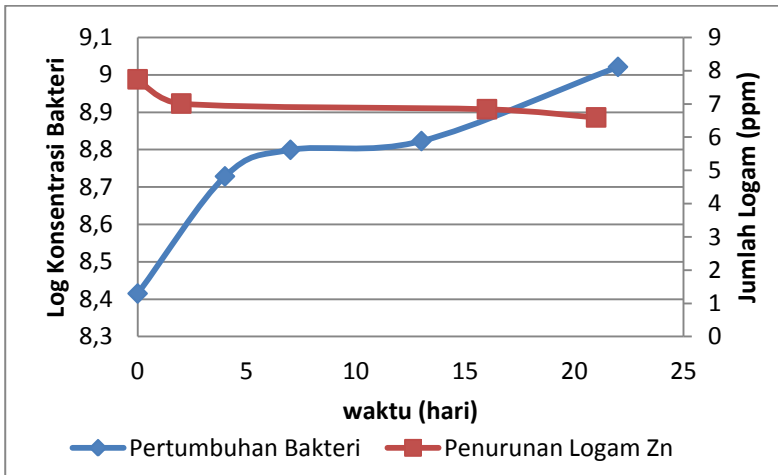
Bakteri	Waktu (hari)	Konsentrasi logam Zn (ppm)	Rate penurunan (ppm/hari)
<i>Bacillus cereus</i>	0	7,74	-
	2	7,01	0,36
	16	6,84	0,01
	21	5,59	0,05
<i>B. cereus:</i> <i>P. putida</i> (1:1)	0	7,74	
	2	6,94	0,4
	16	8,44	-0,11
	21	6,47	0,39
<i>Pseudomonas putida</i>	0	7,74	
	2	7,46	0,14
	16	7,42	0,003
	21	6,31	0,22

Dari tabel IV.8. dapat dilihat bahwa *rate* biosorpsi logam Zn terbesar yaitu dari hari ke 0 – 2 kecuali pada perlakuan *P.putida*. Sama hal nya dengan logam Cu, *rate* biosorpsi logam Zn juga menunjukkan kecenderungan konstan. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya, (Zainus Salimin, 2016), yang

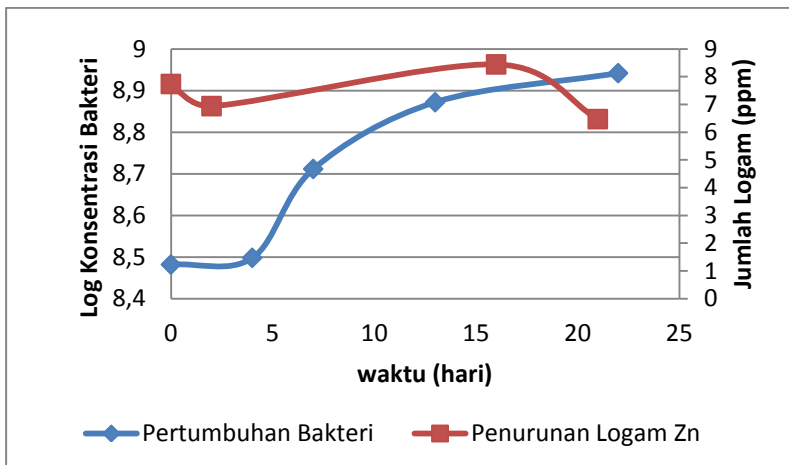
membuktikan bahwa penurunan logam Zn cenderung konstan selama 560 jam (23 hari) perlakuan.

Pada hari ke- 16, *rate* biosorpsi logam Zn oleh campuran bakteri *B.cereus* dan *P.putida* menunjukkan angka negatif. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan logam Zn tidak menurun tetapi malah meningkat. Jika dilihat dari penelitian sebelumnya, fenomena naik turunnya konsentrasi logam ini kemungkinan disebabkan keadaan bakteri dalam kondisi jenuh oleh ion Zn^{2+} dan akhirnya sedikit demi sedikit *binding sites* mulai melepaskan ion Zn^{2+} kembali ke dalam larutan. Keadaan jenuh tersebut disebabkan hampir seluruh pusat aktif dinding sel biomassa telah jenuh oleh ion Zn^{2+} .

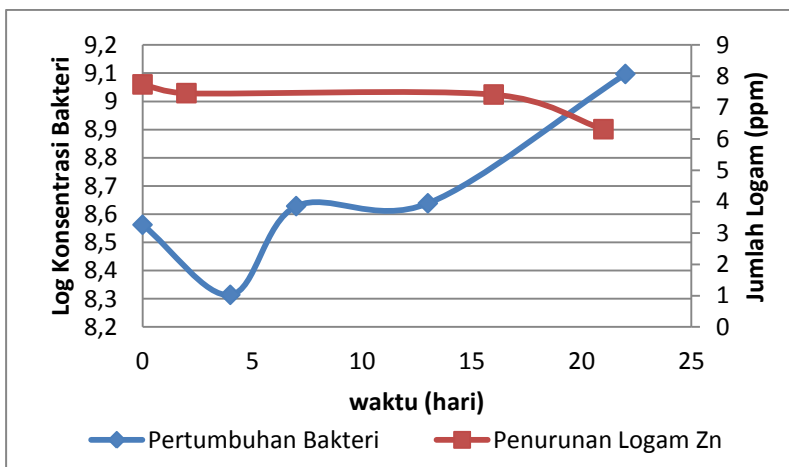
Penurunan logam Zn akan dipengaruhi oleh pertumbuhan bakteri . Hubungan antara keduanya akan disajikan pada Gambar IV.14, IV.15 dan IV.16



Gambar IV.14. Grafik Biosorpsi Logam Zn dan Pertumbuhan Bakteri *B.cereus* terhadap Waktu



Gambar IV.15. Grafik Biosorpsi Logam Zn dan Pertumbuhan Bakteri Campuran *B.cereus* dan *P.putida* (1:1) terhadap Waktu



Gambar IV.16. Grafik Biosorpsi Logam Zn dan Pertumbuhan Bakteri *P.putida* terhadap Waktu

Gambar IV.14, IV.15, IV.16, menunjukkan profil penurunan logam Zn dengan perlakuan bakteri *B.cereus*, *P.putida* dan campuran keduanya. Terlihat bahwa pertumbuhan bakteri pada hari ke- 0 – 21, diikuti dengan penurunan kandungan logam Zn pada sampel. Semakin meningkatnya waktu kontak pada reaktor, konsentrasi bakteri mengalami kenaikan yang tinggi. Hal ini juga diikuti dengan penurunan logam Zn yang tinggi yaitu pada hari ke 15-21. Hal ini berbeda dengan logam Fe dan Cu pada hari ke 15-21 yang mengalami penurunan kemampuan biosorpsi.

IV.2.2.2 Perbandingan Efisiensi Penurunan Logam (Fe, Cu dan Zn) oleh Bakteri *B.cereus* dan *P.putida*

Akumulasi logam berat (Fe, Cu dan Zn) oleh bakteri dapat terjadi dengan cara pengikatan logam berat pada struktur selnya. Pengikatan ini dapat terjadi karena interaksi ion logam dengan permukaan sel bakteri. Keadaan ini diduga karena ukuran sel bakteri yang relatif kecil menyebabkan permukaan bidang sentuh menjadi luas, sehingga kemungkinan terjadinya interaksi yang efektif antara ion logam dengan pusat aktif pada permukaan dinding sel bakteri, semakin besar (Mawardi *et.al.*, 1997). Kemampuan akumulasi kedua bakteri terhadap logam berat (Fe, Cu dan Zn) dikarenakan permukaan dinding sel bakteri baik bakteri Gram positif maupun Gram negatif mempunyai ikatan anion sehingga logam kation akan dengan mudah diadsorpsi (Hoyle dan Beveridge, 1983). Lebih lanjut dikatakan oleh Malekzadeh (2002) bahwa sel bakteri yang utuh, hidup atau mati, dan produk mereka dapat menjadi bioakumulator yang sangat efisien baik untuk bentuk logam yang terlarut maupun partikel. Permukaan sel semua mikroorganisme berarus negatif karena berbagai struktur anion. Hal ini memberikan kemampuan kepada bakteri untuk mengikat kation logam.

Pengikatan logam berat (Fe, Cu dan Zn) oleh *B.cereus* yang merupakan bakteri Gram positif terjadi karena adanya sifat anionic dari peptidoglikan dan polimer kedua yang menyusun permukaan selnya. Peptidoglikan merupakan komponen utama

dari dinding sel dan terdiri dari enam komponen berbeda yaitu N-asetilglukosamin, asam N-asetilmuramik, L-alanin, D-alanin, asam D-glutamik dan L-Lysin (Salle, 1974; Pelezar dan Chan, 1986). Allen (1995) menambahkan bahwa batang peptide yang melekat pada sisa asam muramik kaya akan group karboksil dan memberikan tempat yang sangat reaktif terhadap penyerapan logam. Polimer kedua yang berperan dalam penyerapan logam adalah asam “teichoic” atau asam “theichuronic” yang bersama dengan peptidoglikan merupakan bahan yang paling penting dalam hal kemampuan dinding untuk menyerap ion logam. Asam “teichoic” sendiri merupakan senyawa yang bermuatan negative kuat dan secara structural terikat pada peptidoglikan (William *et al.*, 1995).

Berbeda dengan bakteri Gram positif, pengikatan logam berat (Fe, Cu dan Zn) oleh *P.putida* yang merupakan bakteri Gram negatif melibatkan lapisan peptidoglikan dan membran luar yang terdiri dari struktur bilayer yang terdiri dari fosfolipid pada bagian dalam dan lipopolisakarid pada bagian luarnya. Membran ini merupakan membrane pertama yang berhadapan langsung dengan lingkungan luar dan konsekuensinya merupakan pertimbangan terpenting dalam pengikatan logam oleh bakteri Gram negatif (Allen, 1995). Ditambahkan oleh Hugjes dan Poole (1989) bahwa pengikatan logam berat oleh bakteri Gram negatif dapat ditemukan pada selubung sel atau pada komponen membran sel di bagian gugus fosfat dari lipopolisakarida. Ternyata bahwa pada bakteri Gram negatif adanya komponen lipopolisakarida dan peptidoglikan pada dinding sel membentuk tempat pengikatan kationik utama.

Mekanisme deposisi ion logam pada dinding sel bakteri menurut Beveridge dan Murray dalam Allen (1995) melibatkan interaksi stoikiometri antara kation logam dan daerah aktif di dalam dinding. Interaksi ini menyediakan daerah nukleasi untuk deposisi larutan dari logam. Agregat metal tumbuh dalam dinding secara fisik tertahan oleh ukuran inter molekuler di dalam dinding

sebagai hasil deposit di dalam dinding, tidak mudah dipindahkan oleh air atau diganti oleh proton atau ion logam lain.

Efisiensi penurunan logam (Fe,Cu dan Zn) dapat dilihat pada tabel IV.9.

Tabel IV.9. Efisiensi penurunan konsentrasi logam (Fe, Cu dan Zn) dalam persen (%)

Jenis Bakteri	Fe	Cu	Zn
<i>B.cereus</i>	76,67	86,93	14,81
<i>B.cereus</i> : <i>P. putida</i> (1:1)	76,35	85,75	16,37
<i>P. putida</i>	75,12	86,4	18,46

Hasil uji akumulasi logam berat Fe dan Cu baik oleh *B.cereus* (Gram positif) dan *P.putida* (Gram negatif) didapatkan efisiensi penurunan logam dengan perlakuan *B.cereus* lebih besar dibandingkan dengan perlakuan *P.putida*.

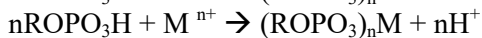
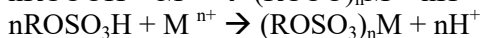
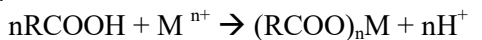
Hal ini sesuai dengan pernyataan Allen (1995) bahwa secara umum permukaan dinding sel bakteri Gram positif mempunyai kapasitas yang lebih besar untuk mengikat ion logam daripada bakteri Gram negatif.

Berbeda dengan logam Fe dan Cu, untuk hasil uji akumulasi logam berat Zn, ternyata menunjukkan efisiensi penurunan dengan perlakuan *P.putida* lebih besar dibandingkan dengan *B.cereus*. Tetapi jika dilihat dari *rate* biosorpsi logam Zn pada tabel IV.5, pada hari ke 0 – 16, penyerapan logam Zn terbesar yaitu pada perlakuan oleh bakteri *B.cereus* yaitu sebesar 0,36 ppm/hari dibandingkan dengan perlakuan oleh bakteri *P.putida* sebesar 0,14 ppm.hari. Hanya pada saat hari ke 16 – 21, daya serap logam Zn oleh bakteri *B.cereus* mulai menurun. Hal ini kemungkinan terjadi karena kejenuhan bakteri dalam menyerap logam Zn.

IV.2.2.3 Perbandingan Penurunan Logam (Fe, Cu dan Zn) Berdasarkan Selektivitas Kation

Kemampuan biosorpsi logam berat pada biomassa bakteri dapat berlangsung karena kandungan Extracellular Polymeric Substance (EPS). EPS pada dinding sel bakteri berfungsi sebagai pengkelat logam berat di permukaan sel. (Iyer *et al.*, 2005).

EPS mempunyai komposisi yang kompleks terdiri dari polisakarida (40-90 % dari total EPS), protein (1-60%), asam nukleat (1-10%), lipida (1-10%) dan sisanya polimer asam amino dan senyawa lainnya yang berasal dari bakteri. EPS pada bakteri *Bacillus cereus* memiliki komposisi yaitu : polisakarida (54,01%), protein (1,85%). Sedangkan pada *Pseudomonas putida* , komposisi EPS nya yaitu : polisakarida (75 %), protein (2 %). EPS dapat melakukan biosorpsi melalui proses pertukaran ion karena EPS banyak mengandung gugus fungsional bermuatan negative seperti karboksilat (RCOOH), fosfat (ROPO₃H), sulfat (ROSO₃H) dan lain-lain, dan gugus fungsional bermuatan positif seperti hidroksil (ROH), aminokarboksilat [RCH(NH₂)COOH] dan lain-lain (Yu Tian, 2008). Pengikatan polutan kation melalui mekanisme pertukaran kation pada EPS berlangsung pada gugus fungsional karboksilat, sulfat dan fosfat mengikuti reaksi sebagai berikut.



Mⁿ⁺ adalah kation bermuatan positif n yang mempunyai selektivitas lebih besar dari kation H⁺ sehingga Mⁿ⁺ dapat mengusir H⁺ sesuai reaksi (1), (2) dan (3). Selektivitas kation mengikuti urutan sebagai berikut (Tchobanoglous, Reynold, T.D) : Cr³⁺ > Fe³⁺ > Sr²⁺ > Ca²⁺ > Ni²⁺ > Cd²⁺ > Cu²⁺ > Co²⁺ > Mn²⁺ > Zn²⁺ > Mg²⁺ > Ag⁺ > Cs²⁺ > K⁺ > NH₄⁺ > Na⁺ > H⁺

Tabel IV.10. Penurunan konsentrasi logam (Fe, Cu dan Zn) dalam ppm

Jenis Bakteri	Fe	Cu	Zn
<i>B.cereus</i>	113,62	3,6554	1,1463
<i>B.cereus</i> : <i>P. putida</i> (1:1)	113,14	3,6058	1,267
<i>P. putida</i>	111,33	3,6339	1,4293

Jika dilihat dari tabel IV.10, penurunan konsentrasi logam terbesar yaitu pada penurunan logam Fe, lalu diikuti oleh logam Cu dan terakhir logam Zn. Hal ini sesuai dengan teori urutan selektivitas kation.

IV.2.3 Kemampuan bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas putida* dalam menyerap logam (Fe Cu dan Zn) pada 15 % konsentrasi bakteri

IV.2.3.1 Profil Penurunan Logam (Fe, Cu dan Zn)

1. Penurunan Logam Fe

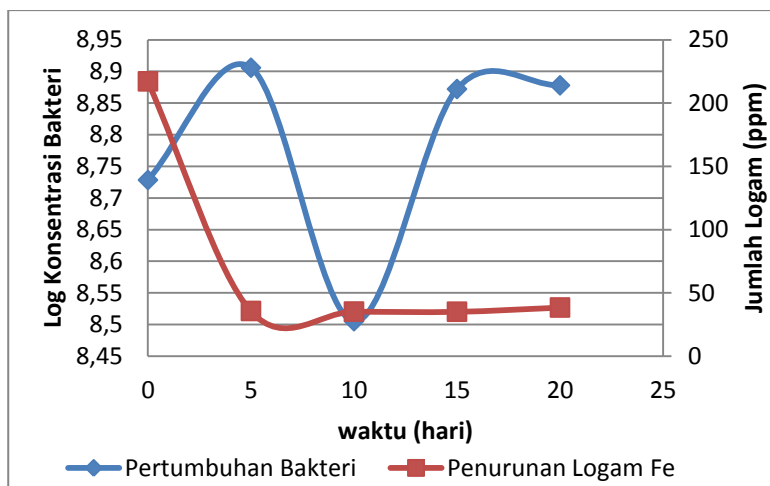
Tabel IV.11 Rate Biosorpsi logam Fe hingga hari ke 20

Bakteri	Waktu (hari)	Logam Fe sisa (ppm)	Rate Biosorpsi Logam Fe (ppm)
<i>Bacillus cereus</i>	0	217,14	-
	5	35,673	36,29
	10	35,2218	0,09
	15	35,099	0,02
	20	38,421	-0,66
<i>B. cereus</i> : <i>P. putida</i> (1:1)	0	217,14	-
	5	34,8041	36,47
	10	34,27	1,54
	15	34,688	-0,08
	20	37,402	-0,54

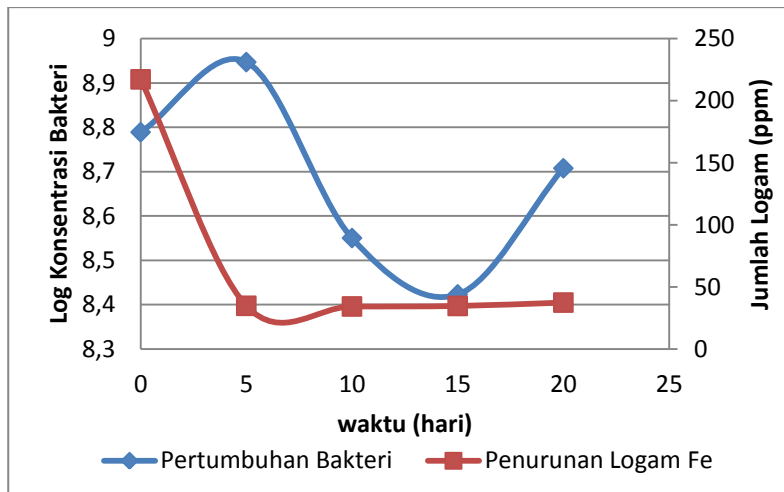
<i>Pseudomonas putida</i>	0	217,4	-
	5	34,89	36,45
	10	35,035	-0,03
	15	36,838	-0,36
	20	37,677	-0,17

Dari tabel IV.11 dapat dilihat bahwa *rate* biosorpsi logam Fe terbesar yaitu dari hari ke 0 - 5. Hal ini berlaku di semua perlakuan, baik dengan *B. cereus*, *P. putida* dan juga campuran keduanya. Ini menunjukkan bahwa kemampuan bakteri dalam biosorpsi logam Fe dalam sampel masih tinggi, dimana kapasitas pusat aktif dinding sel biomassa yang masih banyak, sehingga kemampuan biosorben dalam meng adsorpsi Fe juga akan meningkat. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya ,(Zainus Salimin, 2016), yang membuktikan bahwa waktu optimum bakteri dalam menyerap logam Fe yaitu pada rentang waktu 0 - 146 jam (6 hari).

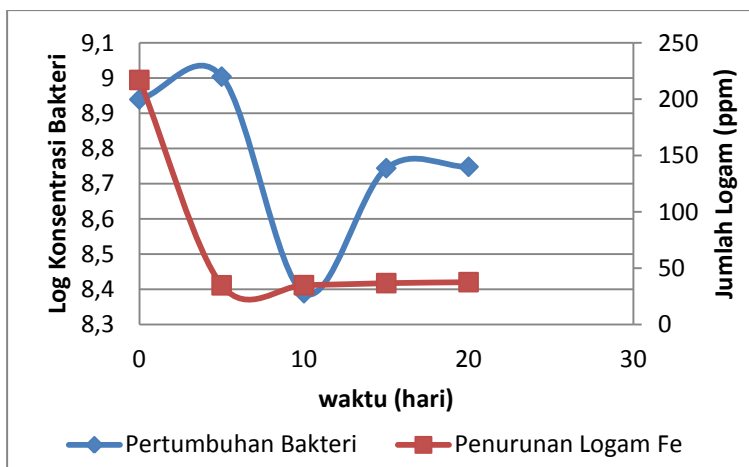
Penurunan logam Fe akan dipengaruhi oleh pertumbuhan bakteri . Hubungan antara keduanya akan disajikan pada Gambar IV.17, IV.18 dan IV.19



Gambar IV.17. Grafik Biosorpsi Logam Fe dan Pertumbuhan Bakteri *B.cereus* terhadap Waktu



Gambar IV.18. Grafik Biosorpsi Logam Fe dan Pertumbuhan Bakteri *B.cereus* dan *P.putida* (1:1) terhadap Waktu



Gambar IV.19. Grafik Biosorpsi Logam Fe dan Pertumbuhan Bakteri *P.putida* terhadap Waktu

Gambar IV.17, IV.18, IV.19, menunjukkan profil penurunan logam Fe dengan perlakuan bakteri *B.cereus*, *P.putida* dan campuran keduanya. Terlihat bahwa pertumbuhan bakteri pada hari ke- 0 – 20, diikuti dengan penurunan kandungan logam Fe pada sampel. Semakin meningkatnya waktu kontak pada reaktor, konsentrasi bakteri mengalami kenaikan yang tinggi kecuali pada hari 5-10. Konsentrasi bakteri sempat mengalami penurunan yang cukup jauh. Sehingga mengakibatkan beberapa logam tidak menurun tetapi malah meningkat. Penurunan konsentrasi bakteri berkaitan dengan pemanfaatan BOD yang juga mengalami penurunan dan telah dijelaskan pada gambar IV.5, IV.6 dan IV.7. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi bakteri yang membiosorpsi logam Fe semakin sedikit. Hal lain yang menyebabkan peningkatan konsentrasi logam Fe adalah keadaan bakteri dalam kondisi jenuh oleh ion Fe^{3+} dan akhirnya sedikit demi sedikit *binding sites* mulai melepaskan ion Fe^{3+} kembali ke dalam larutan. Keadaan jenuh tersebut disebabkan hampir seluruh pusat aktif dinding sel biomassa telah jenuh oleh ion Fe^{3+} .

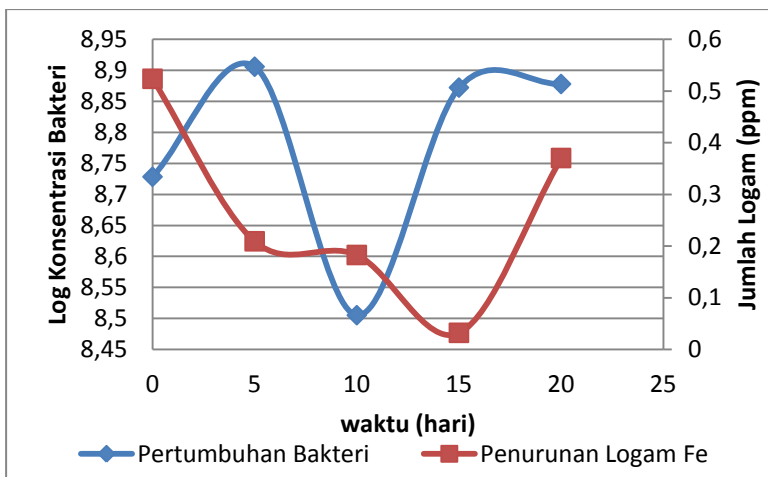
2. Penurunan Logam Cu

Tabel IV.12. Sisa dan *Rate* Biosorpsi logam Cu hingga hari ke 20

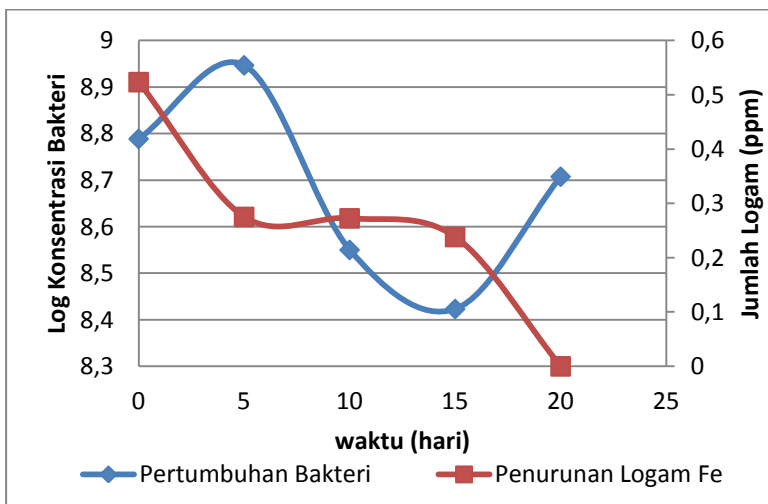
Bakteri	Waktu (hari)	Logam Cu sisa (ppm)	Rate Biosorpsi Logam Cu (ppm)
<i>Bacillus cereus</i>	0	0,52	
	5	0,21	0,06
	10	0,18	0,01
	15	0,03	0,03
	20	0,37	-0,07
<i>B. cereus:</i> <i>P. putida</i> (1:1)	0	0,52	
	5	0,28	0,05
	10	0,27	0,00
	15	0,24	0,01
	20	0,00	0,05
<i>Pseudomonas putida</i>	0	0,52	
	5	0,38	0,03
	10	0,35	0,01
	15	0,00	0,07
	20	0,17	-0,03

Dari tabel IV.12 dapat dilihat bahwa *rate* biosorpsi logam Cu terbesar yaitu dari hari ke 0 – 5. . Ini menunjukkan bahwa kemampuan bakteri dalam biosorpsi logam Cu dalam sampel masih tinggi, dimana kapasitas pusat aktif dinding sel biomassa yang masih banyak, sehingga kemampuan biosorben dalam mengadsorpsi Cu juga akan meningkat.

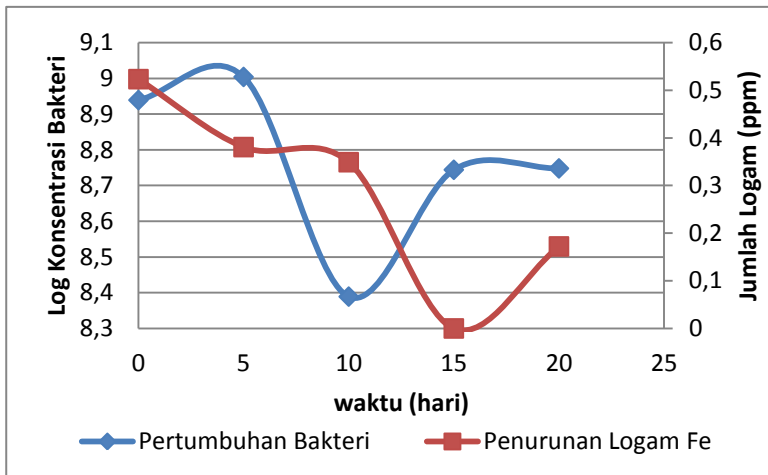
Penurunan logam Cu akan dipengaruhi oleh pertumbuhan bakteri . Hubungan antara keduanya akan disajikan pada Gambar IV.20, IV.21 dan IV.22



Gambar IV.20. Grafik Biosorpsi Logam Cu dan Pertumbuhan Bakteri *B.cereus* terhadap Waktu



Gambar IV.21. Grafik Biosorpsi Logam Cu dan Pertumbuhan Bakteri *B.cereus* dan *P.putida* (1:1) terhadap Waktu



Gambar IV.22. Grafik Biosorpsi Logam Cu dan Pertumbuhan Bakteri *P.putida* terhadap Waktu

Gambar IV.20, IV.21, IV.22, menunjukkan profil penurunan logam Cu dengan perlakuan bakteri *B.cereus*, *P.putida* dan campuran keduanya. Terlihat bahwa pertumbuhan bakteri pada hari ke- 0 – 20, diikuti dengan penurunan kandungan logam Cu pada sampel. Semakin meningkatnya waktu kontak pada reaktor, konsentrasi bakteri mengalami kenaikan yang tinggi kecuali pada hari ke 5-10, konsentrasi bakteri mengalami penurunan yang cukup jauh. Penurunan konsentrasi bakteri berkaitan dengan pemanfaatan BOD yang juga mengalami penurunan dan telah dijelaskan pada gambar IV.5, IV.6 dan IV.7. Penurunan konsentrasi bakteri menyebabkan kemampuan biosorpsi logam Cu juga menurun. Sehingga, pada grafik terlihat bahwa logam Cu tidak mengalami penurunan yang tajam seperti pada hari ke- 0-5 dan hari ke 10-15. Pada hari ke 15, dengan perlakuan oleh bakteri *B.cereus* dan *P.putida*, logam Cu mengalami kenaikan, hal ini bisa disebabkan karena terjadinya kejenuhan bakteri terhadap biosorpsi logam Cu yang selanjutnya

ditandai dengan penurunan konsentrasi bakteri. Tetapi kenaikan konsentrasi logam Cu yang cukup tajam ini kemungkinan disebabkan ketidakakuratan dalam analisa. Selain itu, sampel yang hanya dianalisa satu kali juga menyebabkan ketidakakuratan hasil. Sehingga perlu dilakukan analisa minimal dua kali dalam satu sampel.

3. Penurunan Logam Zn

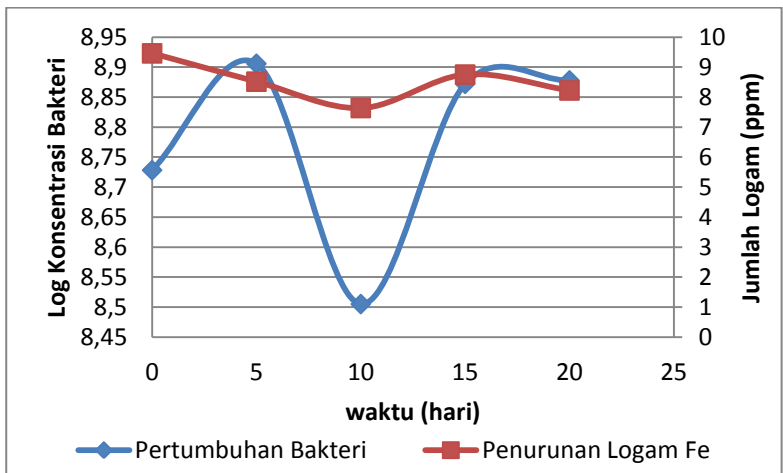
Tabel IV.13. *Rate Biosorpsi logam Zn hingga hari ke 20*

Bakteri	Waktu (hari)	Logam Zn sisa (ppm)	Rate Biosorpsi Logam Zn (ppm)
<i>Bacillus cereus</i>	0	9,46	
	5	8,52	0,19
	10	7,64	0,18
	15	8,75	-0,22
	20	8,22	0,11
<i>B. cereus:</i> <i>P. putida</i> (1:1)	0	9,46	
	5	8,65	0,16
	10	7,91	0,15
	15	7,75	0,03
	20	6,45	0,26
<i>Pseudomonas putida</i>	0	9,46	
	5	8,36	0,22
	10	7,91	0,09
	15	8,20	-0,06
	20	7,47	0,15

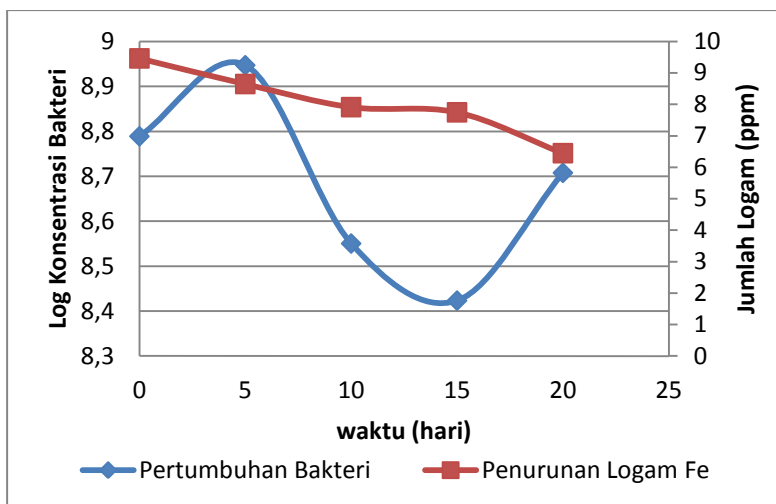
Dari tabel IV.13. dapat dilihat bahwa *rate biosorpsi* logam Zn terbesar yaitu dari hari ke 0 – 5 kecuali pada perlakuan campuran *B.cereus* dan *P.putida* yang dimana *rate biosorpsi* logam Zn terbesar yaitu pada hari ke 15-20. Hal ini terjadi karena konsentrasi bakteri campuran *B.cereus* dan *P.putida* mengalami

kenaikan pada hari ke 15-20. Hal ini dapat dilihat pada gambar IV.29.

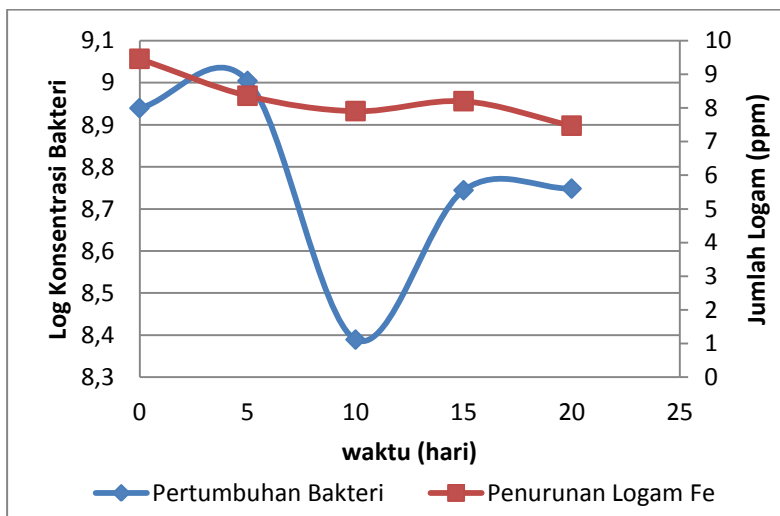
Penurunan logam Zn akan dipengaruhi oleh pertumbuhan bakteri . Hubungan antara keduanya akan disajikan pada Gambar IV.28, IV.29 dan IV.30



Gambar IV.23. Grafik Biosorpsi Logam Zn dan Pertumbuhan Bakteri *B.cereus* terhadap Waktu



Gambar IV.24. Grafik Biosorpsi Logam Zn dan Pertumbuhan Bakteri Campuran *B.cereus* dan *P.putida* (1:1) terhadap Waktu



Gambar IV.25. Grafik Biosorpsi Logam Zn dan Pertumbuhan Bakteri *P.putida* terhadap Waktu

Gambar IV.23, IV.24, IV.25, menunjukkan profil penurunan logam Zn dengan perlakuan bakteri *B.cereus*, *P.putida* dan campuran keduanya. Terlihat bahwa pertumbuhan bakteri pada hari ke- 0 – 20, diikuti dengan penurunan kandungan logam Zn pada sampel. Semakin meningkatnya waktu kontak pada reaktor, konsentrasi bakteri mengalami kenaikan yang tinggi kecuali pada hari ke 5-10, konsentrasi bakteri mengalami penurunan yang cukup jauh. Penurunan konsentrasi bakteri berkaitan dengan pemanfaatan BOD yang juga mengalami penurunan dan telah dijelaskan pada gambar IV.5, IV.6 dan IV.7. Hal ini menyebabkan kemampuan biosorpsi logam Zn oleh bakteri juga menurun. Sehingga terlihat dari grafik bahwa logam Zn tidak mengalami penurunan yang tajam seperti pada hari ke-0-5 dan hari ke 10-15. Pada hari ke 5 – 15, *rate* penurunan Zn berkurang, dan hal ini ditandai dengan berkurangnya konsentrasi bakteri yang mengadsorpsi logam Zn.

IV.2.3.2 Perbandingan Efisiensi Penurunan Logam (Fe, Cu dan Zn) oleh Bakteri *B.cereus* dan *P.putida*

Efisiensi penurunan logam (Fe, Cu dan Zn) dapat dilihat pada tabel IV.9.

Tabel IV.14. Efisiensi penurunan konsentrasi logam (Fe, Cu dan Zn) dalam persen (%)

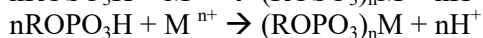
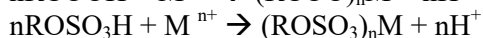
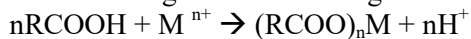
Jenis Bakteri	Fe	Cu	Zn
<i>B.cereus</i>	82,31	29,28	13,08
<i>B.cereus</i> : <i>P. putida</i> (1:1)	82,78	100	31,84
<i>P. putida</i>	82,65	67,11	21

Hasil uji akumulasi logam berat Fe dan Cu baik oleh *B.cereus* (Gram positif) dan *P.putida* (Gram negatif) didapatkan efisiensi penurunan logam dengan perlakuan campuran *B.cereus* dan *P.putida* lebih besar dibandingkan dengan perlakuan bakteri

tunggal (*B.cereus* saja dan *P.putida* saja). Hal ini menunjukkan bahwa campuran bakteri *B.cereus* dan *P.putida* memiliki hubungan sinergisme yang baik dalam proses biosorpsi logam Fe, Cu dan Zn.

IV.2.3.3 Perbandingan Penurunan Logam (Fe, Cu dan Zn) berdasarkan selektivitas kation

Pengikatan polutan kation melalui mekanisme pertukaran kation pada EPS berlangsung pada gugus fungsional karboksilat, sulfat dan fosfat mengikuti reaksi sebagai berikut.



M^{n+} adalah kation bermuatan positif n yang mempunyai selektivitas lebih besar dari kation H^+ sehingga M^{n+} dapat mengusir H^+ sesuai reaksi (1), (2) dan (3). Selektivitas kation mengikuti urutan sebagai berikut (Tchobanoglous, Reynold, T.D) : $\text{Cr}^{3+} > \text{Fe}^{3+} > \text{Sr}^{2+} > \text{Ca}^{2+} > \text{Ni}^{2+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Cu}^{2+} > \text{Co}^{2+} > \text{Mn}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Mg}^{2+} > \text{Ag}^+ > \text{Cs}^{2+} > \text{K}^+ > \text{NH}_4^+ > \text{Na}^+ > \text{H}^+$

Jika dilihat dari efisiensi penurunan logam pada tabel IV.14, efisiensi penurunan logam terbesar yaitu pada logam Fe lalu diikuti dengan logam Cu dan terakhir adalah logam Zn. Sehingga jika ditinjau dari efisiensi penurunan logam Fe, Cu dan Zn, urutan dari yang terbesar ke yang terkecil akan sesuai dengan teori urutan selektivitas kation.

IV.2.4 Perbandingan kemampuan bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas putida* dalam menyerap logam (Fe Cu dan Zn) antara 10% dan 15 % (v/v) konsentrasi bakteri

Kemampuan bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas putida* dalam menyerap logam (Fe Cu dan Zn) antara 10% dan 15% konsentrasi bakteri dapat dibandingkan melalui efisiensi

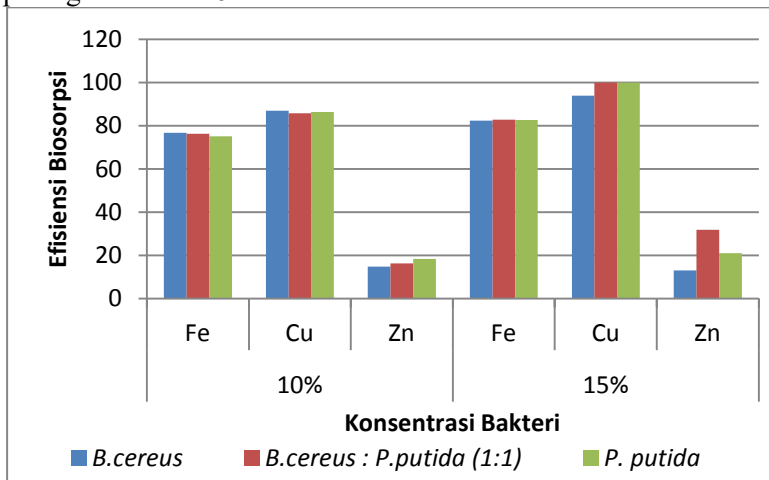
penurunan logamnya. Efisiensi penurunan logam pada 10% dan 15% (v/v) konsentrasi bakteri akan disajikan pada tabel IV.15.

Tabel IV.15. Perbandingan efisiensi penurunan logam (Fe, Cu dan Zn) antara 10% dan 15% (v/v) konsentrasi bakteri

Bakteri	10 % (v/v) konsentrasi bakteri			15 % (v/v) konsentrasi bakteri		
	Fe	Cu	Zn	Fe	Cu	Zn
<i>B.cereus</i>	76,67	86,93	14,81	82,31	29,28	13,08
<i>B.cereus</i> : <i>P. putida</i> (1:1)	76,35	85,75	16,37	82,78	100	31,84
<i>P. putida</i>	75,12	86,4	18,46	82,65	67,11	21

Jika dilihat dari tabel IV.15, secara umum, efisiensi penurunan logam Fe dan Zn lebih besar pada saat 15% (v/v) konsentrasi bakteri. Berbeda dengan logam Fe dan Zn, efisiensi biosorpsi logam Cu pada 15% (v/v) dengan perlakuan bakteri *B.cereus* dan *P.putida* mengalami penurunan. Hal ini disebabkan karena pada hari ke 15-20, konsentrasi logam Zn mengalami kenaikan yang dapat dilihat pada gambar IV.25 dan IV.27. Kenaikan konsentrasi logam Zn ini mengakibatkan efisiensi biosorpsi logam Zn menurun. Pada grafik profil penurunan logam Cu dengan perlakuan bakteri *B.cereus* dan perlakuan bakteri *P.putida*, dapat dilihat bahwa pada hari ke- 15, logam Cu sudah mencapai baku mutu. Efisiensi penurunan logam Cu dengan waktu kontak 15 hari adalah : *B.cereus* = 93,87% ; *B.cereus* : *P.putida* (1:1) = 100 % dan *P.putida* = 100%.

Perbandingan efisiensi penurunan logam Fe, Cu dan Zn antara 10% dan 15% (v/v) konsentrasi bakteri juga dapat dilihat pada gambar IV.26.



Gambar IV.26. Grafik perbandingan efisiensi biosorpsi logam Fe, Cu dan Zn antara 10% dan 15% (v/v) konsentrasi bakteri

Tabel IV.15 menunjukkan bahwa efisiensi penurunan logam Cu lebih besar saat 15% (v/v) konsentrasi bakteri dibandingkan dengan 10% (v/v) konsentrasi bakteri. Pada gambar IV.30 dapat dilihat bahwa efisiensi biosorpsi logam Fe, Cu dan Zn pada konsentrasi 15% (v/v) konsentrasi bakteri lebih besar dibandingkan pada 10% (v/v) konsentrasi bakteri. Hal ini sesuai dengan pernyataan Vijayaraghavan (2006) yang menyatakan bahwa jumlah biosorben (bakteri) merupakan faktor yang mempengaruhi biosorpsi. Konsentrasi biomassa merupakan salah satu faktor penting yang akan mempengaruhi persentase penyerapan suatu logam. Apabila konsentrasi biomassa dinaikkan, maka persentase penyerapan akan mengalami kenaikan. Hal ini disebabkan karena biosorben yang akan melakukan proses biosorpsi logam Fe, Cu dan Zn juga semakin banyak sehingga proses biosorpsi berjalan lebih efektif.

Halaman ini sengaja dikosongkan

APPENDIKS

PERHITUNGAN ANALISA

1. Perhitungan Air : Tanah

$$\begin{aligned}
 \text{Volume slurry} &= 7 \text{ L (20\% tanah, 80\% air)} \\
 \text{Massa jenis tanah} &= 2,817 \text{ kg/L} \\
 \text{Massa jenis air} &= 1 \text{ kg/L} \\
 \frac{1}{\rho_{\text{slurry}}} &= \frac{\text{Fraksi tanah}}{\rho_{\text{tanah}}} + \frac{\text{Fraksi air}}{\rho_{\text{air}}} \\
 &= \frac{0,2}{2,817 \text{ kg/L}} + \frac{0,8}{1 \text{ kg/L}} \\
 \rho_{\text{slurry}} &= 1,148 \text{ kg/L} \\
 \text{Massa slurry} &= \text{Massa jenis slurry} \times \text{volume slurry} \\
 &= 1,148 \text{ kg/L} \times 7 \text{ L} \\
 &= 8,04 \text{ kg} \\
 \text{Massa tanah} &= 0,2 \times 8,04 \text{ kg} \\
 &= 1,608 \text{ kg} \\
 \text{Massa air} &= 0,8 \times 8,04 \text{ kg} \\
 &= 6,432 \text{ kg} \\
 \text{Volume air} &= \frac{\text{Massa air}}{\rho_{\text{air}}} \\
 &= \frac{6,432 \text{ kg}}{1 \text{ kg/L}} = 6,432 \text{ L}
 \end{aligned}$$

2. Perhitungan variabel konsentrasi bakteri dalam persen (v/v) pada limbah

Berikut adalah contoh perhitungan konsentrasi bakteri pada slurry untuk ratio slurry : mikroorganisme adalah 10% (v/v). Perhitungan untuk 15% (v/v) sama dengan 10% (v/v) hanya berbeda pada volume media bakteri.

a. Bakteri *B.cereus* : *P.putida* (0 : 1)

$$\begin{aligned}
 \text{Volume total slurry dalam bioreaktor} &= 7000 \text{ mL} \\
 \text{Volume media bakteri} &= 10\% \times 7000 \text{ mL} \\
 &= 700 \text{ mL} \\
 \text{Konsentrasi sel dalam 700 mL} &= 9,55 \times 10^6 \text{ sel/mL} \\
 \text{Konsentrasi sel di bioreactor} &= \frac{700 \text{ mL}}{7000 \text{ mL}} \times 9,55 \times 10^6
 \end{aligned}$$

$$= 9,55 \times 10^5 \text{ sel/mL}$$

b. Bakteri *B.cereus* : *P.putida* (1 : 0)

$$\text{Volume slurry dalam bioreactor} = 7000 \text{ mL}$$

$$\text{Volume media bakteri} = 10\% \times 7000 \text{ mL}$$

$$= 700 \text{ mL}$$

$$\text{Konsentrasi sel dalam 700 mL} = 4,5 \times 10^6 \text{ sel/mL}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi sel dalam bioreaktor} &= \frac{700 \text{ mL}}{7000 \text{ mL}} \times 4,5 \times 10^6 \\ &= 4,5 \times 10^5 \text{ sel/mL} \end{aligned}$$

c. Bakteri *B.cereus* : *P.putida* (1 : 1)

$$\text{Konsentrasi } P.putida = 9,55 \times 10^6 \text{ sel/mL}$$

$$\text{Konsentrasi } B.cereus = 4,50 \times 10^6 \text{ sel/mL}$$

Agar dalam campuran bakteri memiliki jumlah sel yang sama maka dilakukan perhitungan sebagai berikut :

$$\text{Volume slurry dalam bioreaktor} = 7000 \text{ mL}$$

$$\text{Volume media bakteri} = 10 \% \times 7000 \text{ mL}$$

$$= 700 \text{ mL}$$

$$\text{Jumlah bakteri } P.putida = \text{Jumlah bakteri } B.cereus$$

$$9,55 \times 10^6 \times V \text{ media } P.putida = 4,5 \times 10^6 \times V \text{ media}$$

$$B.cereus$$

$$9,55 \times 10^6 \times V \text{ media } P.putida = 4,5 \times 10^6 \times (700 - V \text{ media } P.putida)$$

$$V \text{ media } P.putida = 224,2 \text{ mL}$$

$$V \text{ media } B.cereus = 475,8 \text{ mL}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi bakteri } P.putida &= \frac{224,2 \text{ mL}}{7000 \text{ mL}} \times 9,55 \times 10^6 \\ &= 3,06 \times 10^5 \text{ sel/mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi bakteri } B.cereus &= \frac{475,8 \text{ mL}}{7000 \text{ mL}} \times 4,50 \times 10^6 \\ &= 3,06 \times 10^5 \text{ sel/mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi sel campuran} &= 3,06 \times 10^5 + 3,06 \times 10^5 \\ &= 6,12 \times 10^5 \text{ sel/mL} \end{aligned}$$

3. Hasil Analisa Perkembangbiakan Bakteri Menggunakan Metode *Counting Chamber*

Berikut contoh perhitungan bakteri saat $t = 0$ (awal pengembangan kultur) untuk bakteri *B.cereus* dan *P.putida* :

Kotak	Jumlah Bakteri (sel/kotak)	
	<i>Pseudomonas putida</i>	<i>Bacillus cereus</i>
A	2	3
B	4	4
C	1	3
D	1	1
E	1	4
Average	1,8	3

Keterangan : faktor pengenceran sebesar 1 kali

$$\begin{aligned}
 \text{Konsentrasi Bakteri } P. putida &= \frac{\text{Jumlah sel}}{\text{Volume kotak}} \times \text{faktor pengenceran} \\
 &= \frac{1,8 \text{ sel}}{\frac{1}{25} \text{ mm}^2 \times 0,1 \text{ mm}} \times 1 \\
 &= 450 \frac{\text{sel}}{\text{mm}^3} \times \frac{1000 \text{ mm}^3}{\text{mL}} \\
 &= 450.000 \frac{\text{sel}}{\text{mL}}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Konsentrasi Bakteri } B. cereus &= \frac{\text{Jumlah sel}}{\text{Volume kotak}} \times \text{faktor pengenceran} \\
 &= \frac{3 \text{ sel}}{\frac{1}{25} \text{ mm}^2 \times 0,1 \text{ mm}} \times 1 \\
 &= 750 \frac{\text{sel}}{\text{mm}^3} \times \frac{1000 \text{ mm}^3}{\text{mL}} \\
 &= 750.000 \frac{\text{sel}}{\text{mL}}
 \end{aligned}$$

Berdasarkan perhitungan seperti di atas maka diperoleh jumlah sel untuk masing-masing variabel adalah sebagai berikut :

Waktu Inkubasi (jam)	<i>Bacillus cereus</i>		<i>Pseudomonas putida</i>	
	Average (sel/kotak)	Konsentrasi Sel (sel/ml)	Average (sel/kotak)	Konsentrasi Sel (sel/ml)
Variabel 10% Bakteri				
0	1,8	450.000	3	750.000
2	2,2	550.000	3,2	800.000
13	1,6	4.000.000	9,4	2.350.000
15	2,8	7.000.000	14,6	3.650.000
17	30,6	7.650.000	16,6	4.150.000
19	34,6	8.650.000	17	4.250.000
23	38,2	9.550.000	18	4.500.000
Variabel 15% Bakteri				
2	20,2	50.500.000	17,0	42.500.000
4	22,0	55.000.000	24,6	61.500.000
6	26,8	67.000.000	36,0	90.000.000
8	34,0	85.000.000	38,2	95.500.000

4. Hasil Analisa Pertumbuhan Bakteri pada Proses Bioremediasi

Berikut contoh perhitungan bakteri saat $t = 4$ pada proses bioremediasi untuk bakteri *B.cereus* dan *P.putida* :

Kotak	Jumlah Bakteri (sel/kotak)			
	<i>Pseudomonas putida</i>	<i>Bacillus cereus</i>	1 : 1	
			<i>P. putida</i>	<i>B. cereus</i>
A	18	22	6	3
B	56	27	4	9
C	67	14	12	4
D	38	16	5	10
E	233	28	7	3
Average	82,4	21,4	6,8	5,8

Keterangan : faktor pengenceran sebesar 10 kali

- Variabel *P. putida* : *B. cereus* = 1 : 0

Konsentrasi Bakteri

$$\begin{aligned}
 &= \frac{\text{Jumlah sel}}{\text{Volume kotak}} \times \text{faktor pengenceran} \\
 &= \frac{82,4 \text{ sel}}{\frac{1}{25} \text{ mm}^2 \times 0,1 \text{ mm}} \times 100 \\
 &= 206.000 \frac{\text{sel}}{\text{mm}^3} \times \frac{1000 \text{ mm}^3}{\text{mL}} \\
 &= 206.000.000 \frac{\text{sel}}{\text{mL}}
 \end{aligned}$$

- Variabel *P. putida* : *B. cereus* = 0 : 1

Konsentrasi Bakteri

$$\begin{aligned}
 &= \frac{\text{Jumlah sel}}{\text{Volume kotak}} \times \text{faktor pengenceran} \\
 &= \frac{21,4 \text{ sel}}{\frac{1}{25} \text{ mm}^2 \times 0,1 \text{ mm}} \times 100 \\
 &= 535.000 \frac{\text{sel}}{\text{mm}^3} \times \frac{1000 \text{ mm}^3}{\text{mL}} \\
 &= 535.000.000 \frac{\text{sel}}{\text{mL}}
 \end{aligned}$$

- Variabel *P. putida* : *B. cereus* = 1 : 1

Konsentrasi Bakteri *P. putida*

$$\begin{aligned}
 &= \frac{\text{Jumlah sel}}{\text{Volume kotak}} \times \text{faktor pengenceran} \\
 &= \frac{6,8 \text{ sel}}{\frac{1}{25} \text{ mm}^2 \times 0,1 \text{ mm}} \times 100 \\
 &= 170.000 \frac{\text{sel}}{\text{mm}^2} \times \frac{1000 \text{ mm}^3}{\text{mL}} \\
 &= 170.000.000 \frac{\text{sel}}{\text{mL}}
 \end{aligned}$$

Konsentrasi Bakteri *B. cereus*

$$\begin{aligned}
 &= \frac{\text{Jumlah sel}}{\text{Volume kotak}} \times \text{faktor pengenceran} \\
 &= \frac{5,8 \text{ sel}}{\frac{1}{25} \text{ mm}^2 \times 0,1 \text{ mm}} \times 100 \\
 &= 145.000 \frac{\text{sel}}{\text{mm}^3} \times \frac{1000 \text{ mm}^3}{\text{mL}} \\
 &= 145.000.000 \frac{\text{sel}}{\text{mL}}
 \end{aligned}$$

Konsentrasi campuran bakteri

$$= \text{Konsentrasi } B.cereus + \text{Konsentrasi } P.putida$$

$$= 170.0000.000 + 145.000.000$$

$$= 315.000.000 \frac{sel}{mL}$$

Berdasarkan perhitungan seperti di atas maka diperoleh jumlah sel untuk masing-masing variabel adalah sebagai berikut :

t (hari)	<i>Bacillus cereus</i>		<i>Pseudomonas putida</i>		<i>B.cereus</i> : <i>P.putida</i> = 1 : 1	
	Average (sel/kotak)	Konsentrasi Sel (sel/ml) [x10 ⁻⁶]	Average (sel/kotak)	Konsentrasi Sel (sel/ml) [x10 ⁻⁶]	Average (sel/kotak)	Konsentrasi Sel (sel/ml) [x10 ⁻⁶]
Variabel 10% Bakteri						
4	21,4	535	8,24	206	12,6	315
7	25,2	630	17,0	425	20,6	515
13	26,6	665	17,4	435	29,8	745
22	42	1.050	50	1.250	30	750
Variabel 15% Bakteri						
0	21,4	535	34,8	870	24,6	615
5	32,2	805	40,8	1.010	35,4	885
10	12,8	320	9,8	245	14,2	355
15	29,8	745	22,2	555	10,6	265
20	30,2	755	22,4	560	20,4	510

5. Hasil Perhitungan Konsentrasi Bakteri menggunakan Metode *Total Plate Count* (TPC)

Apabila metode *counting chamber* dalam perhitungan konsentrasi sel dibandingkan dengan metode perhitungan yang lain yakni *Total Plate Count* (TPC) maka didapatkan hasil yang hampir sama. Percobaan ini dilakukan dengan mengambil 2 sample slurry variabel bakteri *Pseudomonas putida* pada waktu yang sama. Kemudian satu sampel dihitung konsentrasi selnya dengan metode *counting chamber* dan

sampel yang lain menggunakan metode TPC. Hasil yang didapatkan dari kedua metode tersebut adalah sebagai berikut :

- Metode *Counting Chamber*

Kotak	jumlah
A	20
B	22
C	21
D	21
E	21
Average	21

$$\begin{aligned}
 \text{Konsentrasi sel} &= \frac{\text{Jumlah sel}}{\text{Volume kotak}} \times \text{faktor pengenceran} \\
 &= \frac{21 \text{ sel}}{\frac{1}{25} \text{ mm}^2 \times 0,1 \text{ mm}} \times 100 \\
 &= 525.000 \frac{\text{sel}}{\text{mm}^3} \times \frac{1000 \text{ mm}^3}{\text{mL}} \\
 &= 5,25 \times 10^8 \frac{\text{sel}}{\text{mL}}
 \end{aligned}$$

- Metode *Total Plate Count*

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah sampel} &= 0,1 \text{ mL} \\
 \text{Faktor Pengenceran} &= 100.000 \text{ kali} \\
 \text{Jumlah koloni} &= 456 \text{ CFU} \\
 \text{Konsentrasi sel} &= 456 \frac{\text{CFU}}{0,1 \text{ mL}} \times 100.000 \\
 &= 4,56 \times 10^8 \frac{\text{CFU}}{\text{mL}} \\
 &= 4,56 \times 10^8 \frac{\text{sel}}{\text{mL}}
 \end{aligned}$$

Berdasarkan hasil perhitungan diatas dapat disimpulkan bahwa perhitungan konsentrasi sel menggunakan metode *Counting*

Chamber dapat dilakukan sebagai pengganti metode *Total Plate Count*.

6. Hasil Analisa BOD (*Biological Oxygen Demand*)

Berikut contoh perhitungan BOD saat $t = 0$ (awal proses bioremediasi) untuk variabel bakteri *Bacillus cereus* :

Keterangan : $DO_s^0 =$ Oksigen terlarut dalam air limbah sebelum proses inkubasi
 $DO_s^5 =$ Oksigen terlarut dalam air limbah setelah 5 hari inkubasi
 $DO_f^5 =$ Oksigen terlarut dalam air murni setelah 5 hari inkubasi

Berdasarkan pengukuran menggunakan DO-meter type Crison OXI 45P, diperoleh hasil sebagai berikut :

$DO_s^0 = 4,29 \text{ mg O}_2/\text{liter}$

$DO_s^5 = 0,61 \text{ mg O}_2/\text{liter}$

$DO_f^5 = 8,14 \text{ mg O}_2/\text{liter}$

Dengan jumlah pengambilan sampel sebanyak 10 mL dan pengenceran dalam botol winkler hingga 300 mL, maka nilai BOD5 dapat dihitung dengan cara :

$$\begin{aligned} BOD5 &= (DO_s5 - DO_f5) \\ &+ \left[\frac{\text{Volume botol}}{\text{Volume sampel}} \times (DO_f5 - DO_s0) \right] \\ &= (0,61 - 8,14) + \left[\frac{300}{10} \times (8,14 - 4,29) \right] \\ &= 107,97 \text{ mg O}_2/\text{liter} \end{aligned}$$

Berdasarkan perhitungan seperti di atas maka diperoleh nilai BOD untuk masing-masing variable pada konsentrasi 15% bakteri dalam bioreaktor adalah sebagai berikut :

Hari ke-	DO _f ⁵	<i>Pseudomonas putida</i>			<i>Bacillus cereus</i>			1 : 1		
		DO _s ⁰	DO _s ⁵	BOD ₅	DO _s ⁰	DO _s ⁵	BOD ₅	DO _s ⁰	DO _s ⁵	BOD ₅
0	8,14	7,16	0,86	22,12	4,29	0,61	107,97	6,91	0,55	29,31
5	8,19	7,91	4,48	4,69	7,6	1,87	11,38	7,83	4,01	6,62
10	4,8	3,73	2,7	30	4,2	1,08	14,28	4,46	3,17	8,57
15	4	3,48	1,86	13,46	3,61	3,55	11,25	3,21	2,03	13,61
20	4,7	4,15	0,32	12,12	4,3	0,58	7,88	4,3	0,67	7,97

7. *Rate Biosorpsi Logam Fe, Cu dan Zn*

Berikut contoh perhitungan *rate* biosorpsi logam Fe saat t = 0–2 (2 hari proses bioremediasi) untuk variabel campuran bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas putida* (1:1)

Konsentrasi logam Fe awal = 148,19 ppm

Konsentrasi logam Fe hari ke- 2 = 70,69 ppm

Selang waktu = 2 hari

Rate Biosorpsi $\left(\frac{\text{ppm}}{\text{hari}}\right)$

$$= \frac{(\text{Konsentrasi Fe awal} - \text{Konsentrasi Fe pada } t = 2 \text{ hari})}{t = 2 \text{ hari}}$$

$$\text{Rate Biosorpsi (ppm/hari)} = \frac{(148,19 - 70,69)\text{ppm}}{2 \text{ hari}}$$

$$\text{Rate Biosorpsi} \left(\frac{\text{ppm}}{\text{hari}}\right) = 38,75 \text{ ppm/hari}$$

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, maka diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Pada variabel 10% bakteri, efisiensi bioremediasi terbesar baik untuk logam Fe, Cu maupun Zn rata-rata diperoleh menggunakan bakteri *B. cereus* yakni sebesar 76,67% (Fe), 86,93% (Cu), dan 14,81% (Zn) dengan urutan logam teradsorp dari yang terbesar adalah Cu, Fe dan Zn.
2. Pada variabel 15% bakteri, efisiensi bioremediasi terbesar rata-rata diperoleh menggunakan bakteri campuran *B.cereus* : *P.putida* = 1:1 yakni sebesar 82,78% (Fe), 100% (Cu), dan 31,84% (Zn) dengan urutan logam teradsorp dari yang terbesar rata-rata adalah Cu, Fe dan Zn.
3. Efisiensi bioremediasi secara *overall* lebih bagus menggunakan variabel 15% (v/v) konsentrasi bakteri dalam bioreaktor daripada 10% konsentrasi bakteri.

V.2 Saran

1. Dalam penelitian selanjutnya diharapkan adanya pemberian logam pada tanah secara sintesis karena kandungan awal logam pada tanah tercemar yang digunakan dalam percobaan ini terlalu sedikit sehingga perbandingan efisiensi bakteri untuk ketiga variabel bakteri tidak dapat terlihat dengan jelas.
2. Dalam analisa logam menggunakan metode AAS seharusnya dilakukan minimal tiga sampel di titik yang berbeda agar didapatkan hasil kadar logam dalam tanah yang lebih akurat.

Halaman ini sengaja dikosongkan

DAFTAR PUSTAKA

- Akpoveta, OV., Egharevba, F., Medjor, O.W. 2011. "A Pilot Study on the Biodegradation of Hydrocarbon and its Kinetic on Kerosene Simulated Soil". *Int. J.Environ.Sci.* Vol.2, No.1, hal. 54-67.
- Atlas, R.M. Bartha, R. 1993. "Bioremediation of Protelem Pollutans". *International Biodeterioration & Biodegradation*.
- Balba, M.T., Al-Daher, R., Al-Awadhi, N. 1998. "Bioremediation of Oil Contaminated Desert Soil: The Kuwaiti Experience", *Environment International*, Vol. 24, No. ½.
- Bamforth, S.M., Singleton, I. 2005. "Review Bioremediation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Current Knowledge and Future Directions". *Journal of Chem. Technology and Biotechnology*, Vol. 80.
- Bosert, I., Kachel, W.M., Bartha, R. 1984. "Fate oh Hydrocarbons During Oily Sludge Disposal in Soil". *Applied Environtment Microbiology*, Vol. 47, No.4.
- Carrera, L.V. 2010. "Two ex situ Fungal Technologies to Treat Contaminated Soil". Department Food Environment Sci. Div. Microbiol. Univ. Hels. Finl.
- Chergui, A., M.Z. Bhakti, A. Chahboub, S. Haddoum, A. Selatnia dan G.A. Junter. 2007. "Simultaneous Biosorption of Cu, Zn and Cr from aqueous solution by *Streptomyces rimosus*". *Desalination*. 206: 179-184.
- Chun-rong, L., Wen-ke, W., Yu-qing, C., Li-juan Wang. 2013. "Bioremediation of Petroleum Contaminated-Soil". *Presented at the 34 th Congress of International Association of Hydrogeologist*.
- Daniels, M.E., Easterly, T.W. 2012. " Bioremediation: A General Outline", Indiana Department of Environmental Management.

- Das, N., Chandra, P. 2011. "Microbial Degradation of Proteium Hydrocarbon Contaminant: An Overview", Biotechnol. Res. Int., Vol. 2011.
- Harley and Prescott. 2002. "Laboratory Exercises in Microbiology, Fifth Edition".The McGraw-Hill Companies.
- Milic, J.S., Beskoski, V.P., Ilic, M.V. 2009. "Bioremediation of Soil Heavily Contaminated with Crude Oil and Its Products: Composition of the Microbial Consortium". *J.Serb. Chem. Soc.*, Vol. 74.
- Mirsal, I.A. 2008. "Soil Pollution – Origin, Monitoring and Remediation", Springer-Verlag, Berlin.
- Naryaningsih, Agustien. 2005. "Keefektifan *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa* sebagai Bioakumulator Kadmium". Semarang: Tesis Ilmu Lingkungan Universitas Diponegoro.
- Nugroho, A. 2011. "Bioremediasi Hidrokarbon Minyak Bumi", Jakarta: Graha Ilmu Universitas Trisakti.
- Nikakhtari, H., Kumar, P., Nemati, M., Hill, G.A. 2008. "Mass Transfer and Bioremediation of Aromatics from NAPL in a Baffled Roller Bioreactor". *Process Savety and Environment Protection*, Vol. 86.
- Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 85 Tahun 1999, "Tentang Pengelolaan Limbah Bahan Berbahaya dan Beracun".
- R. Kumar, Nongkhlaw, C. Acharya, and S. R. Joshi. 2013. "Growth Media Composition and Heavy Metal Tolerance Behaviour of Bacteria Characterized from The Sub-Surface Soil of Uranium Rich Ore Bearing Site of Domiasiat in Meghalaya". *Indian Journal of Biotechnology* Vol. 12: 115-119.
- Sundstrom, D.W., Klei, H.E. 1979. "Wastewater Treatment". Prentice-Hall Inc.

- Suthersan, S.S., (1999), "Remediation Engineering Design Concepts". Florida: Lewis Publisher, CRC Press. N.W. Corporate Blvd.
- Tang, J., Wang, M., Wang, F., Sun, Q., Zhou, Q. 2011. "Ecotoxicity of Petroleum Hydrocarbon Contaminated Soil". *Journal of Environmental Science*, Vol. 23(5), hal. 845-851
- Tuhuloula, A. 2011. "Bioremediasi Lahan Terkontaminasi Minyak Bumi dengan Menggunakan Bakteri *Bacillus cereus* pada Slurry Bioreactor". Thesis, Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS.
- Tuholoula, A., Chandra Deasy, K.W., Safitri, S.O. 2014. "Biodegradasi Total Petroleum Hydrocarbon oleh Activated Sludge pada Tanah yang Terkontaminasi Minyak Bumi dengan Metode Bioremediasi". *Prosiding Seminar Nasional Industri Kimia & Suber Daya Alam*.
- Tuhuloula, A., Juliastuti, S.R. 2010. "Pemanfaatan Bakteri *Bacillus cereus* pada Proses Bioremediasi Tanah Terkontaminasi Minyak Bumi dengan Metode Slurry Bioreactor". *EKSTRAK*, Vol. 5, No.2, hal. 76-83.
- Vijayaraghavan, K., Yeoung-Sang Yun. 2008. "Bacterial Biosorbents and Biosorption, *Biotechnology Advances*". 26: 266-291.
- Wang, Jianlong dan Can, H. 2009. *Biosorbent for Heavy Metals Removal and Their Future. Biotechnology Advances*". 27: 195-226.
- Widjaja, T. 2008. "Pengaruh Konsentrasi Ca-Alginat pada Produksi Etanol dari Tetes Menggunakan *Zymomonas mobilis* dan *Saccharomyces cerevisiae* dengan Teknik Immobilisasi Sel". *Prosiding Seminar Nasional Fundamental dan Aplikasi Teknik Kimia*.
- Yefrida dan Yuniartis. 2007. "Regenerasi dan Pemanfaatan Kembali Serbuk Gergaji sebagai Penyerap Ion Logam Cd, Cu dan Cr dalam air". (http://repository.unand.ac.id/3676/1/Laporan_Yefrida.MSI.pdf, diakses 10 Juni 2016).

www.agrotekno.net/2013/12/pemanfaat-mikrobia-sebagai-agen.html
www.adln.lib.unair.ac.id/go.php?id=gdlhub-gdl-s2-2014-hidayatinu.html

RIWAYAT HIDUP PENULIS



Annisa Nur Farida. Dilahirkan di kota Surabaya pada tanggal 5 September 1994. Anak pertama dari tiga bersaudara ini, mengawali pendidikan dasarnya di SD Pertiwi 2 Padang. Kemudian melanjutkan pendidikan di SMP Negeri 7 Padang. Selanjutnya penulis melanjutkan pendidikan di SMA Negeri 1 Padang. Pada tahun 2012, penulis memutuskan untuk memilih Jurusan Teknik Kimia di Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya sebagai pendidikan lanjutnya dan melakukan penelitian di Laboratorium Pengolahan Limbah Industri dengan judul **“Peran bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas putida* dalam bioremediasi logam berat (Fe, Cu dan Zn) pada tanah tercemar minyak bumi”**

No. HP : +6285263008226

Email : annisa.nurfarida46@yahoo.com

RIWAYAT HIDUP PENULIS



Dalya. Anak ketiga dari pasangan Zaky dan Azizah. Penulis dilahirkan di Kota Madiun pada tanggal 17 Februari 1994. Penulis mengawali pendidikan formal pertamanya di MI Islamiyah 02 Madiun. Pendidikan menengahnya di SMP Negeri 1 Madiun, kemudian melanjutkan ke jenjang pendidikan akhirnya di SMA Negeri 1 Madiun. Pada tahun 2012 penulis memutuskan untuk melanjutkan pendidikannya dengan memilih Jurusan Teknik Kimia di Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya dan melakukan penelitian di Laboratorium Pengolahan Limbah Industri dengan judul **“Peran bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas putida* dalam bioremediasi logam berat (Fe, Cu dan Zn) pada tanah tercemar minyak bumi”**

No. HP : +6285649260666
Email : dalya095@gmail.com